

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

**CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERAS EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

TEMA:

**ESTUDIO DE LA PROBLEMÁTICA EPIDEMIOLÓGICA DE LA
MASTITIS BOVINA EN EL CANTÓN CAYAMBE**

AUTORAS:

**JESSICA GUADALUPE BALLESTEROS JEREZ
ANDREA CAROLINA VALDIVIESO VILLAMARÍN**

TUTORA:

NANCY FABIOLA BONIFAZ GARCÍA

Quito, marzo 2018

Cesión de derechos de autor

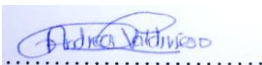
Nosotros Jessica Guadalupe Ballesteros Jerez y Andrea Carolina Valdivieso Villamarín, con documentos de identificación N° 1804392338, y 1721943627 respectivamente, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del trabajo de titulación intitulado: **ESTUDIO DE LA PROBLEMÁTICA EPIDEMIOLÓGICA DE LA MASTITIS BOVINA EN EL CANTÓN CAYAMBE**, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autoras nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Firmas:



Nombre: Jessica Guadalupe Ballesteros Jerez
Cedula: 1804392338
Fecha: Quito, marzo 2018

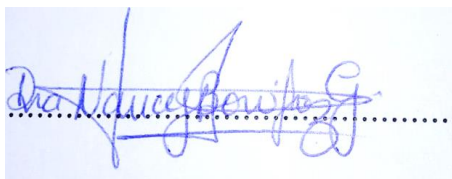


Nombre: Andrea Carolina Valdivieso Villamarín
Cedula: 1721943627
Fecha: Quito, marzo 2018

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación **ESTUDIO DE LA PROBLEMÁTICA EPIDEMIOLÓGICA DE LA MASTITIS BOVINA EN EL CANTÓN CAYAMBE** realizado por Jessica Guadalupe Ballesteros Jerez y Andrea Carolina Valdivieso Villamarín, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerado como trabajo final de titulación.

Quito, marzo 2018



Nancy Fabiola Bonifaz García

0602085110

Dedicatorias

Guadalupe Ballesteros

Agradezco a Dios por darme fortaleza y sabiduría , haberme permitido lograr uno de mis objetivos con su infinito amor y bondad. A mi madre Yolanda Jerez y a mi padre Antonio Ballesteros quienes son un pilar fundamental, una guía espiritual y mi fortaleza, gracias por que me ayudaron a crecer , me dieron una carrera para mi futuro, todo esto se los debo a ustedes. A mis queridos tios y primos especialmente Alicia Jerez que nunca me ha dejado sola en este trayecto , que su apoyo y paciencia han sido una de las mejores herramientas para culminar con esta meta.

Andrea Valdivieso

Dedico este trabajo primero a Dios y a mi angelito mi abuelita Claudina por ser mi guía en todo este camino, a mi madre Rocío por ser mi fortaleza y enseñarme que no existen obstáculos en la vida que no se puedan superar, a su vez por brindarme todo su amor y paciencia a lo largo de mi vida, a mi padre Ángel por inculcarme buenos valores y ser siempre mi amigo, y a mi hermano Andrés por ser mi compañero de vida en momentos buenos como en los malos, ser mi apoyo y mi ejemplo, gracias por ser esas personas que más amo en esta vida.

A mis primas Lucia, Cristina y Gabriela por ayudarme en esta etapa y nunca dejarme vencer, a mis tíos Esperanza, Rosario y Héctor por enseñarme que la unión familiar hace que todos los obstáculos se puedan superar.

A mi angelito Carlitos que llego en el momento justo para darme las fuerzas para continuar con el proyecto, este trabajo es para ustedes gracias por siempre sentirse orgullosos de mi.

Agradecimientos

*Agradecemos a la Universidad Politécnica Salesiana por abrirnos las
puertas e inculcarnos los conocimientos necesarios en esta etapa de
nuestras vidas sea a nivel profesional como personal.*

*Al grupo de investigación NUKUI WAKAN y al Laboratorio de Calidad de
Leche UPS Cayambe por permitirnos hacer posible la ejecución y desarrollo
del proyecto tanto en el uso de sus instalaciones.*

*A nuestra tutora Dra. Nancy Bonifaz y al Ing. Janss Beltrán por brindarnos
el apoyo, paciencia, dedicación, cariño y la guía necesaria para poder
culminar la investigación*

Índice

Introducción	1
Capítulo 1.....	4
Marco Conceptual.....	4
1.1.Mastitis	4
1.1.1.Factores que causan mastitis.....	4
1.1.1.1Factores físicos	5
1.1.1.2 Factores genéticos.....	6
1.1.2 Clasificación de mastitis basada en la intensidad de la infección	7
1.1.2.1 Mastitis clínica.....	7
1.1.2.2 Mastitis subclínica	8
1.1.3 Etiología causante de la mastitis.....	8
1.1.4 Principales microorganismos causantes de la mastitis bovina	9
1.1.4.1 Microorganismos contagiosos	9
1.1.4.2 Microorganismos ambientales	10
1.1.4.3. Microorganismos oportunistas	11
1.2 Métodos de detección de mastitis	12
1.2.1 Observación y palpación de la ubre	12
1.2.2 Prueba biológica	13
1.2.3 Prueba bacteriológica.....	14

1.3 Antibiograma y antibióticos en mastitis	15
1.3.1 Antibiogramas.....	15
1.3.2 Antibióticos utilizados para antibiogramas en mastitis	16
1.4 Prevalencia de la enfermedad	17
Capítulo 2.....	18
Materiales y métodos	18
2.1 Localización y descripción	19
2.2 Fase de Campo.....	20
2.3 Fase de laboratorio.....	21
2.3.1. Identificación de agentes etiológicos.....	21
2.3.1.1 Preparación de medios	21
2.3.1.2. Identificación de agentes etiológicos.....	21
Algoritmo A: identificación de cocos Gram (+).....	22
Algoritmo B: identificación de bacilos Gram (-).....	23
Algoritmo C: identificación de levaduras	23
Algoritmo D: identificación de mohos	24
2.3.1.3. Antibiogramas.....	24
2.3.2. Determinación del parámetro epidemiológico para mastitis “Prevalencia”	24
Capítulo 3.....	25
Resultados y Discusión.....	25
3.1 Porcentaje de cuartos mamarios afectados con mastitis bovina	25

3.2 Análisis de prevalencia en Centros de acopio y Haciendas.....	29
3.2.1 Análisis de prevalencia en Centros de Acopio	30
3.2.2 Análisis de prevalencia en Haciendas.....	31
3.2.3 Análisis de prevalencia total entre pequeños y grandes productores ..	32
3.3 Porcentajes de presencia de agentes etiológicos.....	32
3.4.1 Análisis de presencia de agentes etiológicos en centros de acopio	35
3.4.2 Análisis de presencia de agentes etiológicos en Haciendas.....	36
3.5 Porcentajes de resistencia antibióticos.....	37
3.5.1 Resistencia de antibióticos en Centros de Acopio	39
3.5.2 Porcentaje de resistencia antibióticos en Haciendas.....	40
Conclusiones.....	42
Recomendaciones	44
Anexos	51

Índice de tablas

Tabla 1 Interpretación de resultados de la prueba de California para Mastitis.....	14
Tabla 2. Clasificación de drogas antibacterianas de acuerdo con su distribución potencial en la glándula mamaria de vía parenteral e intramamario para el control de mastitis.....	16
Tabla 3. Distribucion de fincas muestreadas en la investigación.....	19
Tabla 4. Medios utilizados con su especificación	21
Tabla 5. Porcentajes de cuartos mamarios afectados por centros y haciendas muestreados.....	28
Tabla 6. Porcentajes de presencia de agentes etiológicos.....	32
Tabla 7. Porcentajes de resistencia de antibióticos	37

Índice de figuras

Figura 1. Porcentajes obtenidos de cuartos mamarios muestreados en los 5 Centros de acopio del cantón Cayambe.....	26
Figura 2. Porcentajes de mastitis bovina por cuartos mamarios afectados en fincas ganaderas.....	27
Figura 3. Porcentaje de prevalencia de mastitis bovina en centros de acopio y fincas ganaderas del cantón Cayambe y Pedro Moncayo.....	30
Figura 4. Porcentajes obtenidos de 11 agentes etiológicos presentes en los 5 Centros de acopio muestreados	35
Figura 5. Porcentaje obtenido de los 11 agentes etiológicos presentes en haciendas.....	36
Figura 6. Porcentaje de resistencia obtenido en centros de acopio.....	39
Figura 7. Porcentaje de resistencia antibióticos en Haciendas	40

Índice de Anexos

Anexo 1 Fase de la metodología; Fase de campo: toma de muestras de leche	51
Anexo 2 Fase 1 de la metodología Pruebas de California test (CMT)	52
Anexo 3 Fase 2 fase laboratorio: Análisis de conteo de células somáticas en el equipo Fossomatic.....	54
Anexo 4 Fase 2 de laboratorio: Trabajo en el área de microbiología en siembra de muestras de leche en diferentes estilos.....	55
Anexo 5 Fase 2 de laboratorio: Pruebas de identificación microbiología, pruebas químicas.	56
Anexo 6 Fase 2 de laboratorio: Tipos de hemolisis presentes en agar sangre.....	57
Anexo 7 Fase 2 de laboratorio: Pruebas de Fermentación en agar manitol sal.....	58
Anexo 8 Fase 2 de laboratorio : Resultados obtenidos en diferentes medios de cultivo	59
Anexo 9 Fase 2 de laboratorio : Resultados obtenidos mediante la observación en el microscopio con una resolución en el lente 100x.....	60
Anexo 10 Protocolo LCL 001 del Laboratorio de calidad de la leche en Cayambe	61

Resumen

En el Ecuador, entre los mayores productores de leche se encuentran los cantones Cayambe y Pedro Moncayo al norte de la provincia de Pichincha, donde la alta producción lechera se ve acompañada cada vez con mayor intensidad por problemas de mastitis recurrentes, sobre todo a nivel de pequeños y medianos productores, que está provocando pérdidas importantes. Por tal motivo con la presente investigación se planteó: determinar la prevalencia de la mastitis bovina e identificar los agentes etiológicos y la resistencia de éstos a diferentes familias de antibióticos. Al analizar 389 muestras provenientes de 5 centros de acopio y 3 fincas ganaderas se diagnosticó que, 96 fueron positivas a mastitis; la prevalencia promedio determinada fue de 24.16 %; los agentes etiológicos más prevalentes fueron los *Staphylococcus coagulasa negativo* seguido de los *Staphylococcus coagulasa positivo* y Levaduras spp; además se identificó la resistencia antibacteriana a penicilina con un 46.88 % y estreptomicina 17.71 %.

Palabras claves: leche, agente etiológico, mastitis, prevalencia, resistencia.

Abstract

In Ecuador, among the main milk producers are the cantons of Cayambe and Pedro Moncayo in the north of the province of Pichincha, where high milk production is accompanied more and more intensely by recurrent mastitis problems, especially at the small level and medium producers, which is causing Why for this reason the following research was proposed: determine the prevalence of bovine mastitis and identify etiological agents and resistance to families of antibiotics. When analyzing 389 samples from 5 collection centers and 3 livestock farms, it was diagnosed that 96 were positive to mastitis; the prevalence was 24.16 %; *Staphylococcus coagulase negative* followed by *coagulase-positive Staphylococcus* and Yeasts spp; In addition, antibacterial resistance to penicillin was identified with 46.88 % and streptomycin 17.71 %.

Keywords: milk, etiological agent, mastitis, prevalence, resistance.

Introducción

La ganadería dedicada a la producción de leche de origen bovino según Bonifaz, (2016) "es una de las principales actividades económicas de un gran número de familias campesinas en los cantones Cayambe y Pedro Moncayo al norte de la provincia de Pichincha" (p.1) en los cuales la prevalencia de mastitis está presentado cada vez valores más preocupantes.

Para los pequeños y medianos productores la mastitis bovina es considerada como uno de los principales problemas sanitarios, por su condición multifactorial provocada por un sin número de microorganismos que continuamente cambian su dinámica ecológica provocando constantes mutaciones en los genomas dificultando el tratamiento y su erradicación (Bonifaz N. , 2016).

La mastitis a más de causar una disminución en la producción y en la calidad de la leche, también es causante del aumento en los costos de producción por el tratamiento que exige (medicamentos y asistencia profesional) y por las pérdidas debido a descartes prematuros de animales por esta patología. Además, la leche que está afectada con la enfermedad cambia su composición química, física y bacteriológica, presentando un menor porcentaje de sólidos totales, proteínas, grasa y calcio, a lo cual se suma los problemas por los

residuos de antibióticos en la leche debido a los tratamientos que realizan los productores (Farinango, 2015).

Según el artículo 9 del capítulo IV (seguimiento y control) del acuerdo ministerial 394 denominado “precio de sustentación al productor por litro de leche en finca o centro de acopio”, a través de la Subsecretaría de Ganadería de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD), el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) (2013) afirma que:

Podrá ejecutar las acciones y los instrumentos necesarios para el control, la regulación y sanción de la distorsiones o irregularidades que se den en la fase de producción primaria de la cadena de la leche, esto con el objeto de verificar y controlar el pago del precio de sustentación más componentes, calidad higiénica y sanitaria por litro de leche cruda pagado en finca o en centro de acopio (p.8).

En donde los posibles problemas generados por la mastitis, como los residuos de antibióticos en leche, aparecen como una de las causas de fuertes sanciones, además de que se convierte un problema de salud pública.

“La prevalencia de una enfermedad en el caso del estudio la mastitis es el número total de individuos que presentan síntomas o padecen una enfermedad

durante un periodo de tiempo, dividido por la población con posibilidad de llegar a padecer dicha enfermedad" (Bonifaz, 2016, p.1). Según Fernández (2004) "Proporciona una estimación del riesgo o probabilidad de que un individuo de esta población pueda llegar a padecer la enfermedad referida" (p.2).

Por lo expuesto, la presente investigación tuvo como objetivos identificar la prevalencia de mastitis bovina, los agentes etiológicos que la están provocando y la resistencia que éstos presentan a los antibióticos, en unidades productivas familiares de pequeños y medianos productores indígenas campesinos asociados en centros de acopio, enfriamiento y comercialización de leche cruda y 3 empresas ganaderas en los cantones Cayambe y Pedro Moncayo al norte de la provincia de Pichincha.

Capítulo 1

Marco Conceptual

1.1. Mastitis

La mastitis bovina es una inflamación del tejido glandular mamario, que se caracteriza por el aumento de células somáticas, principalmente neutrófilos polimorfonucleares y por un acrecentamiento en el contenido de proteasa en la leche (Bedolla, Castañeda, y Wolter, 2007, p. 2). Esta enfermedad ocasiona dolor y estrés en la vaca, produciendo una mala calidad de la leche ya que altera las características organolépticas como son el sabor, textura y color. Se logra una mejor identificación por medio de los signos clínicos que presenta cada animal entre los cuales según Martínez & Flores (2012) "se incluyen un aumento en el número de leucocitos, composición y apariencia alterada (grumos), fiebre, cuartos mamarios enrojecidos, hinchados y calientes " (p.6).

La mastitis es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero, debido a los efectos que ocasiona sobre la producción y la calidad de leche. Algunas investigaciones aseguran que la mastitis causa una disminución en la producción del 70 % de las pérdidas totales, y otros porcentajes contribuyen a la disminución en el precio por deficiencias de calidad, gastos en medicamentos, servicio veterinario, desecho de animales, descarte en la leche, problemas de residuos de antibióticos (Acebo, 2007, p. 1).

1.1.1. Factores que causan mastitis

La mastitis se considera como una enfermedad compleja y es producto de la interacción de varios factores, resumidos en el animal, el medio ambiente y

los microorganismos, donde el hombre juega un papel decisivo. En los últimos años, en nuestro país los cambios producidos en la tecnología de producción, en el manejo de los rebaños y aspectos de indisciplina técnica conforman una probable fuerte influencia en la productividad de los rebaños (Armenteros, 2002, p.99).

1.1.1.1 Factores físicos

Entre los factores físicos causantes de la mastitis se encuentra la forma de ordeño tomando en cuenta el manejo de materiales y métodos de aplicación, además está el estrés en animales, e higiene en el proceso.

En lo que respecta al ordeño, su estrategia ha cambiado a lo largo del tiempo, pasando del esquema manual al mecánico con el fin de disminuir la mano de obra, y aumentar el índice de producción de leche. En el ordeño mecánico, ciertas actividades se pueden realizar de una manera incorrecta, debido a que el personal que lo maneja no cuenta con el entrenamiento adecuado y puede provocar un sobre ordeño, escurrido y además de ordeños discontinuos. Una falla en las condiciones sanitarias de la máquina ordeñadora puede ser participe en el transporte de microorganismos patógenos causantes de mastitis. Según De la Cruz (2012) "Los parámetros de operación del equipo de ordeño deben estar ajustados a los estándares apropiados, y las unidades de ordeño deben ser usadas correctamente para prevenir la irritación de la punta del pezón o los daños que puedan conducir a mastitis" (p.17).

Para Avila T. y Gutiérrez C. (2004) el manejo del ordeño en los pequeños y medianos productores se ejecuta de la siguiente manera:

El ordeño manual se realiza con el empleo de diferentes métodos como son: "mano llena", "pellizco" y "pulgar", siendo recomendable el primer método, pero son pocos los ordeñadores que lo emplean ya que la mayoría aplica una combinación de los tres métodos mencionados (p.7).

El incorrecto manejo de los animales al momento del ordeño puede provocar la aparición de la enfermedad, como por ejemplo: intranquilidad de los animales antes y durante el ordeño por ruidos extraños, cambios de rutina, introducción o separación de grupos de animales, cambio de personal o presencia de personas extrañas en la sala, el maltrato de las vacas por los ordeñadores pueden causar traumatismos y además que influye de forma directa el clima y alimentación, son todos factores estresantes que pueden interferir con un adecuado ordeño (Kruze,1998, p.2) y a su vez propagando la patología. Según Olguín (2008)" La higiene es un factor de suma importancia, ya que cuando esta no es adecuada, la presencia de microorganismo patógenos es inminente, aumentando la posibilidad contraer la enfermedad"(p.3).

1.1.1.2 Factores genéticos

La susceptibilidad a la mastitis es mayor en algunas vacas que otras, esto se debe a una característica heredable a la conformación de la ubre, esfínter del pezón, ubres pendulares, ordeñabilidad, edad y lactancia de los animales. Acuña (2008) afirma que:

Los factores estructurales del canal del pezón, son importantes en la regulación de la entrada de microorganismos, se afirma que si el tono de las

estructuras anatómicas de la apertura del pezón es reducido, la resistencia a la entrada de los microorganismos será menor (p.8).

1.1.2 Clasificación de mastitis basada en la intensidad de la infección

1.1.2.1 Mastitis clínica

Se estima que un tercio de todas las vacas lecheras están afectadas por cualquier forma de mastitis en uno o más cuartos, y si bien pueden citarse 137 especies entre bacterias, mohos y levaduras productoras de mastitis bovina el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, son considerados como los responsables de las mastitis en el ordeño (Armenteros, 2002, p.99).

"Esta forma de infección intramamaria se caracteriza por anomalías visibles en la ubre y en la leche, cuya severidad varía mucho en el transcurso de la enfermedad. Pueden observarse cuartos enrojecidos e hinchados, o bien palparse endurecimientos" (Castillo, 2014, p.1). Según Chaves (2015) "La mastitis clínica generalmente es causada por alguno de los patógenos mayores, como son: *Staphylococcus*, *Streptococcus* y coliformes" (p.2).

"Puede presentarse de forma aguda y se caracteriza por su aparición súbita; en la forma crónica, se presenta una infección de larga duración, con leche de apariencia anormal y cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre" (Fernández, 2012, p.4).

1.1.2.2 Mastitis subclínica

"Se caracteriza por no presentar signos visibles de enfermedad, la leche es aparentemente normal, pero existe una disminución en la producción de la misma y un aumento en el conteo de células somáticas" (Ruiz, 2012, p.8).

Esta patología se presenta con mayor frecuencia en animales que cuentan con más de un ciclo de lactación. Garza e Hidalgo (2015) menciona que:

Existe una relación negativa en cuanto al CCS y el rendimiento de la leche.

La leche normal proveniente de cuartos sanos y generalmente contiene menos de 200. 000 células somáticas/ml, sin embargo valores de células somáticas arriba de 300. 000 es un indicador de la inflamación de la ubre (p.12).

"Las bacterias asociadas más frecuentemente con las infecciones intramamarias subclínicas son: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativos*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus uberis*" (Chaves, 2015, p. 2).

1.1.3 Etiología causante de la mastitis

La causa principal de la enfermedad son los microorganismos patógenos, se clasifican como patógenos contagiosos, ambientales y oportunistas tal es el caso de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, y *Streptococcus dysgalactiae* considerados patógenos contagiosos que se adaptan al medio dentro de la ubre del hospedero y pueden propagarse de vaca a vaca durante el ordeño, siendo los ambientales y oportunistas;

Pseudomonas Streptococcus uberis, Enterococcus spp., Staphylococcus coagulasa negativos (SNC) Staphylococcus epidermidis, E. coli; Hongos como *Aspergillus* sp.; y Levaduras como *Candida* sp (Bradley, 2002, p 8).

Martinez (2013) "se consideran patógenos ambientales, a microorganismos que se describen como oportunistas, además estos se pueden transferir potencialmente del medio ambiente contaminado a la glándula mamaria" (p.58).

1.1.4 Principales microorganismos causantes de la mastitis bovina

1.1.4.1 Microorganismos contagiosos

Entre los microorganismos contagiosos que causan la mastitis, están:

Staphylococcus aureus penetra en el área del pezón en la glándula mamaria específicamente, en donde se multiplica, aumenta su población y daña al tejido glandular, Pereyra Dallard y Calvhino (2014) afirman que:

La infección por *S. aureus* comienza con un episodio subclínico o clínico agudo, generalmente evoluciona hacia la cronicidad y puede persistir a largo de toda la vida del animal, la eficacia de curación en casos crónicos luego del tratamiento con antibióticos es baja y no existe una terapia efectiva para eliminar por completo la infección del cuarto mamario afectado (p.1).

Con respecto a *Streptococcus agalactiae*, desde la década de 1960 se implementó medidas para erradicar "Es una bacteria gram-positiva que se ha considerado como un patógeno importante en animales grandes", este no tiene capacidad de invadir a los tejidos internos de la glándula mamaria, pero si coloniza la superficie de los epitelios, por lo que los mecanismos de defensa deben actuar a este nivel, cuando logra alcanzar el interior de la glándula se

localiza en el seno lactífero del pezón, glándula o ductos galactóforos (Ruiz, 2008, p.8).

El *Streptococcus dysgalactae*, “Es una especie de naturaleza tanto infecciosa como ambiental” (Felipe, 2010, p. 50). Puede obtener acceso a la glándula mamaria a través de equipo de ordeño directamente en los pezones. Durante el mismo, fluctuaciones irregulares de vacío puede forzar a que las bacterias ingresen al canal de la tetina, proporcionando la infección. Además, se propaga a las vacas no infectadas a través del contacto con el medio ambiente, Como en todos los casos, microorganismos ambientales, se pueden evitar, manteniendo un ambiente limpio y seco para que las vacas no contraigan la patología (Carrillo, 2017, p.1).

1.1.4.2 Microorganismos ambientales

Entre los microorganismos ambientales, están:

Streptococcus uberis “Es la bacteria ambiental a la que se le atribuyen más pérdidas ocasionadas por mamitis. Esta bacteria tiene importancia tanto en la fase de lactación como en el período seco, causando infecciones intramamarias (la mayoría de las veces subclínicas), que muchas veces se cronifican” (Jimenez, 2015, p. 19).” En infecciones por *Streptococcus uberis* se aprecia que cuando afecta a un animal se produce una bajada de producción en los primeros 200 días de lactación de 200 kg de leche comparándola con gemela no infectada. Además se produce un aumento obvio del recuento celular” (Martin, 2014, p.71).

La bacteria *Escherichia coli* es verdaderamente oportunistas y la respuesta inmune los elimina con éxito después de un breve período de enfermedad

clínica leve, tienden a estar menos adaptados para la supervivencia en la ubre y, a menudo desencadenan una respuesta inmune. La duración de la infección se asocia con el grado de adaptación al hospedador del patógeno (Ruegg, 2010, p.1).

Los principales orígenes de *Pseudomonas* spp. son el agua y el suelo, donde estas bacterias pueden colonizar las superficies de los equipos de ordeño y mangueras, generando una biopelícula que favorece su adherencia y las protege de los agentes desinfectantes, convirtiéndose en una fuente de contaminación para la leche (Iramain, 2005, p.134).

1.1.4.3. Microorganismos oportunistas

Entre los microorganismos oportunistas, están:

Staphylococcus epidermidis es uno de los más importantes patógenos oportunistas, forman parte de los estafilococos coagulasa-negativo, bacterias que se aíslan en el laboratorio y se caracteriza por ser sensibles a la novobiacina.

Estos patógenos poseen en general un potencial muy pobre para causar enfermedad. Sin embargo, pueden penetrar en el conducto galactóforo hacia la ubre y provocar infecciones muy persistentes que requieren una terapia muy difícil (Bedolla y Ponce, 2008. p.5).

La gran mayoría de los casos de mastitis son causados por bacterias, aunque últimamente la literatura está registrando un aumento de los casos de etiología micológica" (Spanamber, 2008, p.1). El hongo más frecuente es *Aspergillus* sp. Entre las especies más frecuentes están *fumigatus* y *ochraceous*, que se pueden encontrar con relativa facilidad en la piel humana y esta puede ser una

de las fuentes de infección sobre todo si los ordeñadores no utilizan guantes. Otros hongos identificados son *Sepedonium* sp., *Cladosporium carrionii*, *Penicillium* sp. y *Trichophyton verrucosum*. (Martin M. , 2001)

Según Ruegg (2010) "La tasa de curación terapéutica para algunos patógenos causantes de mastitis (levaduras, Pseudomonas, micoplasma, Prototheca etc.) es prácticamente cero, independientemente del tratamiento" (p.4).

Las levaduras son hongos de una sola célula que se puede encontrar en medios húmedos sobre todo si existe materia orgánica La levadura que más frecuentemente se identifica en laboratorio es *Candida*. En el caso de *Candida*, la más frecuente es *C. albicans* aunque se han descrito otras muchas como causantes de casos de mastitis en vacas: *C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. famata*, *C. utilis* y *glabrata* (Martin, 2001, p.2).

1.2 Métodos de detección de mastitis

Entre los principales métodos de detección de mastitis están:

1.2.1 Observación y palpación de la ubre

La infección puede provocar inflamación de uno o varios cuartos lo cual ocasiona un aumento de la temperatura en el área afectada, así como enrojecimiento y dolor, estos eventos provocan que el sistema inmune del animal actúe tratando de aliviar el problema, además de lograr la mayoría de las veces, mantener la infección únicamente en el área afectada sin alterar otros órganos o sistemas del animal. (Bedolla, Castañeda y Wolter, 2007, p.3)

Por este motivo se realiza un seguimiento al cuarto mamario afectado encontrando los síntomas enumerados los cuáles nos indican un caso de mastitis clínica.

1.2.2 Prueba biológica

El número de células somáticas (CCS) aumenta durante el ordeño, y permanece alto por varias horas después, para resultados confiables, las pruebas deben realizarse justo antes del ordeño, después de estimular la vaca en la descarga de los primeros chorros de leche (Orellana, 2010, p.8).

La prueba de California mastitis test (CMT) es la que se utiliza con mayor frecuencia en análisis de campo, para el diagnóstico de mastitis tanto clínica como subclínica. Según Echeverri (2010) afirma que la prueba consiste en:

Agregar un detergente a la leche, el alquilauril sulfonato de sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre, y éste se convierte, en combinación con agentes proteicos de la leche, en un complejo gelatinoso (p. 54)

Los resultados pueden ser interpretados en cinco clases: desde el resultado negativo en el que la leche y el reactivo siguen siendo acuosos, hasta el recuento de células más elevado, en el que la mezcla de la leche y el reactivo casi se solidifican (Ruiz, 2016).

La prueba no tiene reacciones falsas negativas pero puede presentar reacciones falsas positivas en vacas con menos de 8 días posparto o con lactancias superiores a los 10 meses (Velasquez, 2012). “En estos casos la reacción de viscosidad es muy similar en los 4 cuartos y es producto del incremento de células epiteliales que fisiológicamente se da en estos dos períodos de la lactancia” (Orellana, 2010, p.9). La sensibilidad y especificidad se ven influenciados por la presencia del microorganismo que está causando

la infección y a su vez es un indicador comparativo con el conteo de células somáticas totales.

Tabla 1.
Interpretación de resultados de la prueba de California para Mastitis

Puntuación	Significado	Descripción de la reacción	Interpretación (CCS/mL)
N	Negativo	La mezcla permanece en estado líquido y homogéneo.	200 000
T	Trazas	Hay algo de engrosamiento. La reacción es reversible y la viscosidad observada por primera vez tiende a desaparecer.	150 000- 500 000
1	Ligeramente positivo	La mezcla espesa, pero no hay formación de gel en medio de la paleta y la viscosidad observada tiende a persistir.	400 000- 1 500 000
2	Positivo	Gel se formará dentro de la paleta durante el movimiento giratorio. El gel se acumula en la parte inferior de la paleta cuando el movimiento giratorio se interrumpe. Cuando se vierte la mezcla la masa gelatinosa cae y puede dejar un poco de líquido en el pocillo	800 000- 5 000 000
3	Muy positivo	Gel se forma en el centro de la paleta y se pega en el fondo del pocillo, pero no a un lado. Cuando se vierte la mezcla, se cae sin dejar líquido detrás.	>5 000 000

Fuente: (Talavera, 2012)

1.2.3 Prueba bacteriológica

En la industria lechera se encuentra como el método más utilizado para la detección de mastitis, el Conteo de Células Somáticas (CCS que se basa en la tinción nuclear fluorométrica. “Durante el proceso de medición se tiñen las células somáticas con un colorante fluorescente para obtener una reacción sólo con el DNA de las células, generalmente bromuro de etidio” (Echeverri, 2010, p.2).

Bedolla, Castañeda y Wolter (2007) afirman que:

Las partículas sucias y los glóbulos de los lípidos no se suman al número de las células somáticas. La muestra pasa por una membrana de poros finos

frente a una luz especial y un detector registra cada célula somática. Entre cada muestra el aparato limpia su sistema de flujo para evitar el efecto del arrastre de una muestra a otra y, por ende, mide con alto grado de precisión y exactitud el recuento de células somáticas. Además da la posibilidad de registrar los datos automáticamente (p.7).

1.3 Antibiograma y antibióticos en mastitis

1.3.1 Antibiogramas

“El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos” (Aguila, 2016, p.2). Se utiliza con mayor frecuencia en los laboratorios de microbiología para el estudio de la actividad antimicrobiana frente a los microorganismos responsables de la mastitis.

La International Organization for Standardization (ISO,2013) ha definido los criterios de interpretación de resultados en función de la probabilidad del éxito o del fracaso terapéutico, en:

- Sensible: cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.
- Intermedio: cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto
- Resistente: cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el fracaso terapéutico (p.10)

La interpretación de resultados están basados en los criterios por medio de los puntos de corte. “Son utilizados en los laboratorios de microbiología y consiste en la clasificación clínica de los resultados por medio de la traducción de los halos de inhibición que aparece en los informes de sensibilidad” (USAL, 2014). “La interpretación del antibiograma establece la probabilidad de éxito o de fracaso terapéutico que se deriva de la utilización de los antimicrobianos frente a los microorganismos causantes de infección y estudiados en el antibiograma” (Moreno, 2014, p.178).

1.3.2 Antibióticos utilizados para antibiogramas en mastitis

La tabla 2 muestra los antibióticos utilizados para el control de mastitis, de acuerdo con su distribución potencial en la glándula mamaria y su vía de administración

Tabla 2.
Clasificación de drogas antibacterianas de acuerdo con su distribución potencial en la glándula mamaria de vía parenteral e intramamario para el control de mastitis.

Buena distribución	
<i>Parenteral</i>	<i>Intramamario</i>

Eritromicina	Cefaxolina
Tilosina	Tisolina
Florfenicol	Ampicilina
Lincomicina	Amoxicilina
Tilmicosina	Penetomato
Distribución limitada	
Penicilina	Penicilina
Amoxicilina	Tetraciclinas
Ampicilina	Cloxacilina
Cefalosporinas	Cefacetrile
Distribución pobre	
Neomicina	Neomicina
Gentamicina	Kanamicina
Kanamicina	Gentamicina
Polimixina	Polimixina

Fuente (Calvhino, 2010)

La curación bacteriológica se evalúa generalmente a los 7, 14, 21 y 28 días post tratamiento. Los índices de curación bacteriológica son altos frente a las distintas especies del género *Streptococcus*, mientras que frente a *Staphylococcus aureus* y organismos coliformes son mucho menores (Calvhino, 2010, p.2).

1.3.2.1. Cuidados durante el uso de antibióticos

Como regla básica, es bueno recordar que en muchos casos los animales bajo tratamiento no deben ser sacrificados para su consumo como alimento al menos 10 días después de la última dosis de medicamento. A su vez la leche obtenida de animales en los últimos 4 días (96 horas) de tratamiento, no debe ser consumida o usada para hacer alimentos derivados de la leche (Domvet, 2007, p.1).

1.4 Prevalencia de la enfermedad

Según Bravo (2009) el sector lechero, carece de información científica de los parámetros básicos de mastitis, tales como prevalencia de Mastitis Subclínica, incidencia de mastitis clínica y etiología bacteriana, dada la falta de

coordinación en el uso de la información existente entre productores, plantas lecheras, laboratorios de calidad de leche, programas de control lechero, veterinarios y agrónomos especialistas que permita coordinar la lucha contra esta enfermedad (p.4).

a Prevalencia (P) es la cantidad de población que presenta la enfermedad, durante un tiempo determinado, sin distinguir los casos nuevos de los antiguos, también se la puede expresar como el números de animales afectados que se la divide a la población total, según Galvez (1998) "esta generalmente se expresa como prevalencia puntual, la cual es la cantidad de enfermedad que existe en una población en un momento determinado en el tiempo" (p.15). También es importante conocer la etiología bacteriana que se presenta en ambos tipos de infecciones, para así adecuar los tratamientos a la flora bacteriana presente.

La Prevalencia es igual a:

$$P = \frac{C}{N} * 100$$

Donde:

P: es Prevalencia

C: es el número de casos afectados por la enfermedad

N: es el número de efectivos de una población

Capítulo 2

Materiales y métodos

2.1 Localización y descripción

Esta investigación se realizó en 25 fincas ganaderas de pequeña extensión (1 a 10 hectáreas) agrupadas en centros de acopio, enfriamiento y comercialización de leche asociativos en las comunidades de Cariacu, Paquiestancia, Moyurco, Puliza y Pesillo ubicadas en el cantón Cayambe, y en 3 fincas de gran extensión (30 a 100 ha.) denominadas San Mateo en el mismo cantón Cayambe y La Alegría y El Chaupi en el cantón Pedro Moncayo, todas al norte de la provincia de Pichincha.

Tabla 3.

Distribución de fincas muestreadas en la investigación

UBICACIÓN		COMUNIDAD	EXTENSIÓN (ha)	NOMBRE DE LA ORGANIZACIÓN O FINCA	NÚMERO DE FINCAS
PROVINCIA	CANTÓN				
Pichincha	Cayambe	Paquiestancia	1 - 10	Centro de Acopio Paquiestancia	4
		Cariacu		Centro de Acopio Cariacu	4
		Moyurco		Centro de Acopio Moyurco	6
		Puliza		Centro de Acopio Sumak Guagra	4
		Pesillo		Centro de Acopio Pesillo	7
		Cuniburo	30 - 100	San Mateo	1
	Pedro Moncayo	Cananvalle	30 - 100	La Alegría	1
		Cananvalle		El Chaupi	1

Elaborado por: las Autoras, 2018.

La raza de bovinos Holstein es la que prevalece en todas las fincas, existiendo muy pocos ejemplares Jersey. La alimentación corresponde básicamente a mezclas de gramíneas y leguminosas, donde prevalecen entre las gramíneas el Rye Grass anual (*Lolium multiflorum*) y el Rye Grass perenne (*Lolium perenne*) y entre las leguminosas el Trébol Blanco (*Trifolium repens*).

El sistema de pastoreo utilizado es el de cosecha directa con la ayuda de cercas vivas, excepto en la finca San Mateo que mantiene un sistema estabulado.

Por cuestiones de interés de análisis, en adelante se generará información por separado de las pequeñas fincas (1- 10 ha.) agrupadas en centros de acopio y de las grandes fincas (30 – 100 ha.), las cuales serán denominadas “centros de acopio” para el primer caso y “empresas ganaderas” para el segundo.

2.2 Fase de Campo

El primer muestreo de leche se realizó para la detección de casos positivos a mastitis en bidón, en cada centro de acopio y a su vez en las fincas ganaderas, la muestra de 40 mL fue tomada bajo el protocolo LCL 001 (laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana). (Anexo 10) la toma de la muestras fue a las 5 am en los centros de acopio de leche, mientras que en las fincas por cada animal.

Las muestras fueron llevadas para el análisis del conteo de células somáticas (CCS) por citometría de flujo en el equipo FOSSOMATIC, en el laboratorio acreditado de calidad de leche de la UPS, según la norma NTE INEN 9 (2012), para leche cruda bovina se seleccionaron como positivas aquellas que superaron los 700.000 (CCS /mL) que nos indica la presencia de mastitis clínica. Luego realizó la segunda toma de la muestra por vaca y cuarto mamario del animal mediante la prueba de campo del California Mastitis Test (CMT) a las vacas positivas con mastitis clínica, por medio del siguiente protocolo: Al inicio se descarta dos chorros de leche (despunte) por cada cuarto, se coloca 5ml en cada una de las placas de la paleta. Al inclinar la paleta se desecha parte de esta leche, obteniendo la misma cantidad en los

cuatro pacillos, de la misma manera se adiciona aproximadamente la mitad del reactivo CMT para proceder a mezclarlas (leche y reactivo). Finalmente se determinó la reacción de gelificación que indica la presencia o ausencia de mastitis, cuya interpretación se muestra en la tabla N 1, las muestras positivas a la prueba fueron transportadas por refrigeración a 4° C hasta llegar al área de microbiología del laboratorio de calidad de leche.

2.3 Fase de laboratorio

2.3.1. Identificación de agentes etiológicos

2.3.1.1 Preparación de medios

El proceso se inició, elaborando 6 litros aproximadamente de cada medio según las especificaciones establecidas en cada envase (tabla N 3) que se utilizó para los algoritmos de identificación de microorganismos detallado a continuación.

Tabla 4.

Medios utilizados con su especificación

Medio	Especificación
Agar nutritivo	31 g / L
Agar Mac Conkey	50 g / L
Agar bifásico sangre-chocolate	Adquirido de laboratorio
Agar PDA	39 g / L
Muller	37 g / L

Elaborado por: las Autoras, 2018.

2.3.1.2. Identificación de agentes etiológicos

En la cámara de flujo fueron sembradas las muestras de leche cruda en agar nutritivo con la técnica de hisopado, después con la ayuda de un asa estéril se realizó un estriado compuesto obteniendo mayor pureza de cepas en los

cultivos microbianos, 37 °C de incubación por 24- 48 horas fue la espera para el crecimiento bacteriano, y el posterior análisis individual de colonias, ya que se obtuvo un cultivo mixto.

La tinción Gram de las colonias previamente aisladas, permitió diferenciar con el color morado las bacterias Gram (+) y con el color rojo las bacterias Gram (-) utilizando un microscopio óptico calibrado, de acuerdo con este resultado se eligió el algoritmo A, B, C, o D a seguir.

Algoritmo A: identificación de cocos Gram (+)

Las colonias microbianas identificadas como *cocos* Gram (+) se sembraron en cajas Petri bifásicas de agar sangre-chocolate, con un estriado simple y compuesto, fueron incubados a 37 °C por 24 horas.

Al dar seguimiento a los tipos de hemólisis en el agar sangre, se pudo identificar el tipo de microorganismo dentro de las cuales se encontró según Qualitat (2015):

"La hemólisis alfa se refiere a una lisis parcial de eritrocitos que produce una coloración verde que se observa alrededor de las colonias, la hemólisis beta se refiere a un halo de hemólisis completamente claro y la hemólisis gama se refiere a la ausencia de hemólisis" (p.1). Cómo se observa en el Anexo 6.

Siguiendo con el protocolo, las colonias aisladas del agar chocolate fueron analizadas con la prueba de catalasa, la cual consiste en poner la colonia microbiana en contacto con el agua oxigenada esperando una respuesta visible.

Cuando la prueba fue positiva para catalasa, se tomó una a dos colonias aisladas de agar chocolate para su resiembra en agar manitol sal que fue

incubado a 37 °C por 24 horas. En el caso de que la colonia sea capaz de fermentar el medio, este tiende a cambiar su coloración naranja (Bowen, 2014, p 38).

Al mismo tiempo se realizó la prueba de coagulasa en tubos eppendorf según el protocolo (Veracruzana, 2014, p.5) En el caso de ser positiva se reportó como *Staphylococcus coagulasa positivo*.

En caso contrario siendo el resultado negativo de catalasa se realizó la prueba de Lancefield siguiendo las especificaciones del kit ya establecido. Al seguir este protocolo se reportó el resultado como un *Enterococcus*.

Algoritmo B: identificación de bacilos Gram (-)

Las colonias microbianas identificadas como bacilos Gram (-), siguieron el mismo procedimiento que en el algoritmo A, hasta la identificación del tipo de hemolisis, después de este proceso se realizó la prueba de oxidasa basada en el protocolo de (Olmos, 2010,p.12).

Cuando la prueba de oxidasa fue negativa se inició el proceso en el agar Mac Conkey lactasa, la cual indica una fermentación de lactasa positiva para color violeta según (Olmos, 2010,p.16) además se llevó a cabo las pruebas API para identificación y reporte del tipo de *Enterobacteria*.

Mientras que si la prueba de oxidasa fue positiva se reportó de acuerdo con el tipo de *Pseudomona*.

Algoritmo C: identificación de levaduras

Las colonias que en tinción Gram y observación en el microscopio no se identificaron como cocos y bacilos, fueron resembradas en agar papa dextrosa

(PDA) incubándolas a 30 °C por 48 horas, para posteriormente llevarlas a pruebas bioquímicas que identificaron el género.

Algoritmo D: identificación de mohos

Una vez formado el micelio en la caja de agar nutritivo, se realizó una resiembra con un asa de punción en agar PDA incubado a 25 °C por 72 horas, para su posterior análisis molecular por secuenciación.

2.3.1.3. Antibiógramas

Las bacterias Gram positivas o negativas fueron sembradas en una solución de NaCl al 0.9 %, e incubadas a 37 °C por 24 horas, se midió la concentración de crecimiento en escala Mac farlan de 0.5, y posteriormente se realizó un hisopado de la solución en una caja Petri con medio Muller.

Los discos de antibióticos fueron colocados en la superficie del medio de cultivo inoculado, realizando una ligera presión para su mejor adherencia, la caja preparada se incubo durante 24 horas a 37 °C.

13 Antibióticos fueron analizadas por cada muestra: Neomicina, Enrofloxacina, Gentamicina, Ciprofloxacina, Fosfomicina, Penicilina, Ampicilina, Amoxicilina, Tetraciclina, Cefazolina, Cefatoxima, Streptomycin, Azitromicina, La respuesta de cada antibiótico fue determinada mediante la variable “halo de inhibición”, en escala de resistente, intermedio y susceptible.

2.3.2. Determinación del parámetro epidemiológico para mastitis

“Prevalencia”

Las muestras tomadas en el tercer momento de la fase de campo se ingresaron al área microbiológica del Laboratorio de Calidad de Leche la Universidad

Politécnica Salesiana, las cuales fueron codificadas para su posterior identificación etiológica, priorizando la asepsia y los protocolos a seguir de acuerdo con las normativas del laboratorio

La determinación de la prevalencia en centros de acopio y empresas ganaderas y total, se realizó aplicando la formula general de la misma según (Gálvez, 1998)

Capítulo 3

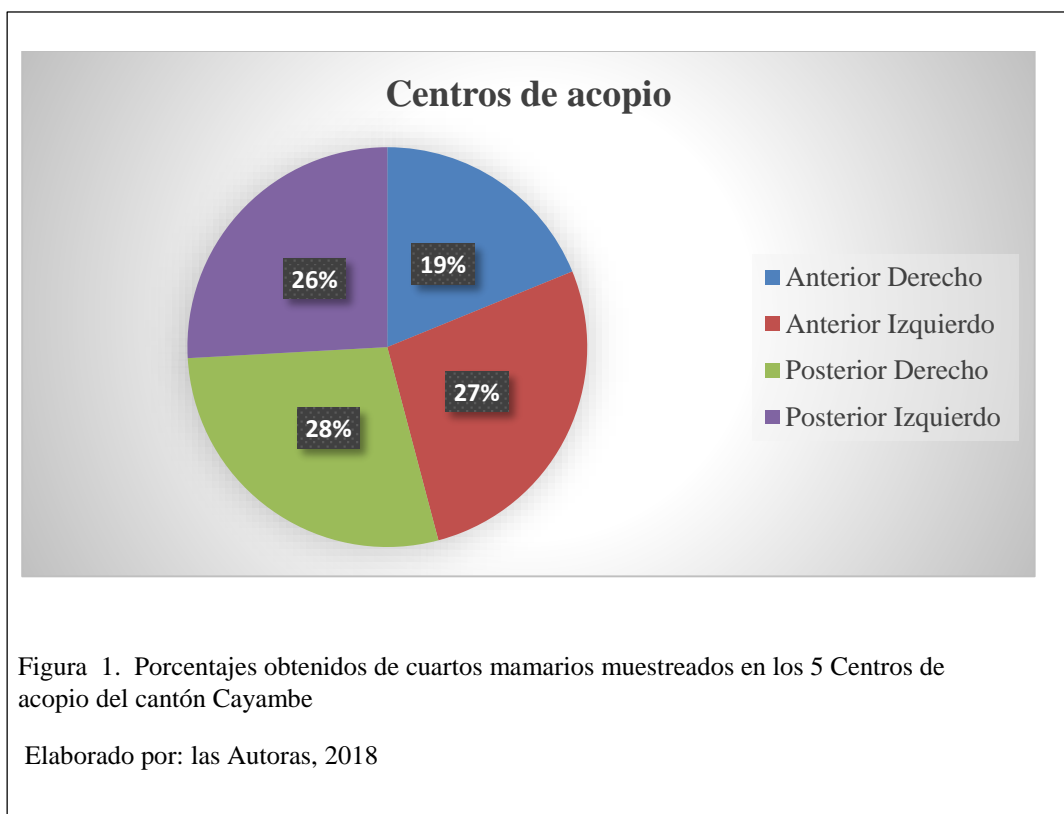
Resultados y Discusión

3.1 Porcentaje de cuartos mamarios afectados con mastitis bovina

De acuerdo con los resultados de la prueba de CMT de 96 animales positivos a mastitis bovina, se analizaron 148 cuartos mamarios de los cuales se obtuvo

los siguientes porcentajes distribuidos en centros de acopio y fincas ganaderas del total de la población muestreada.

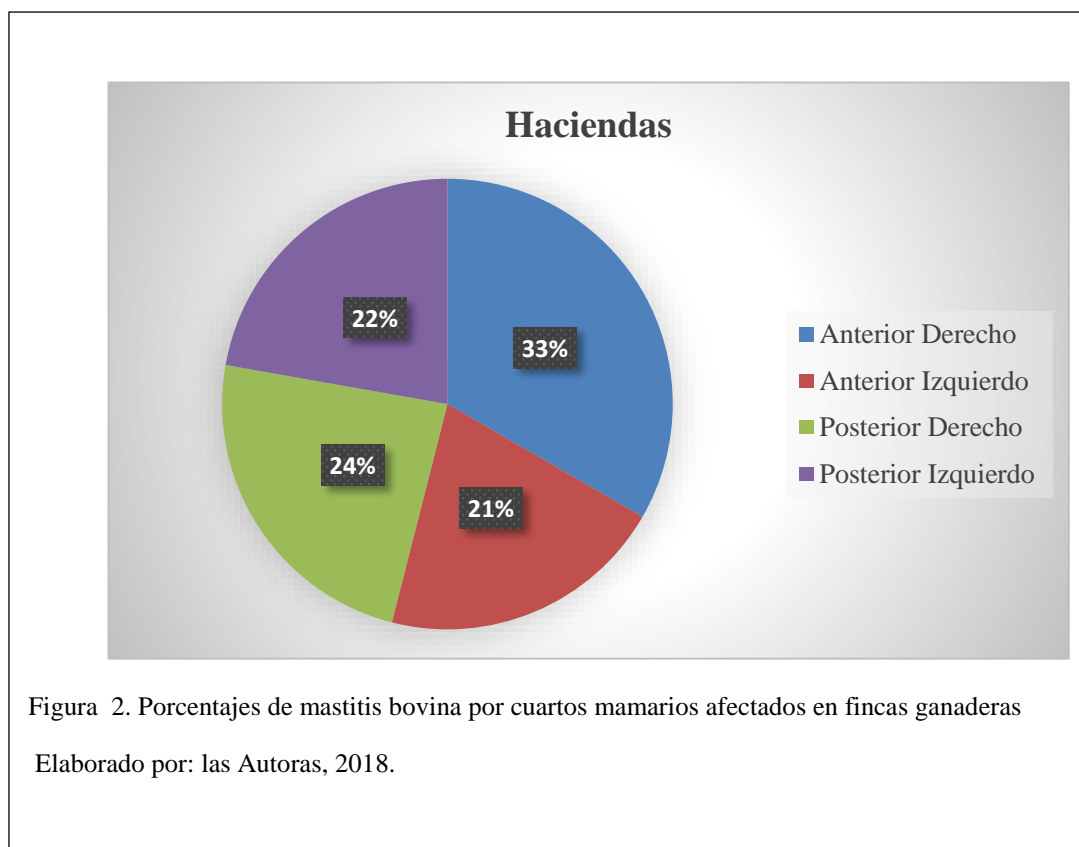
3.1.1 Porcentajes de cuartos mamarios afectados en Centros de Acopio



En la figura 1 se detalla el porcentaje de cuartos mamarios afectados por mastitis en las comunidades (Puliza, Moyurco, Cariacu, Pesillo y Paquiestancia) en el cual se obtuvo en porcentaje $>28\%$ de afectación por mastitis para el cuarto posterior derecho (PD), seguido por los cuartos anterior izquierdo (AI) y posterior izquierdo (PI) con un 27% y 26% ; el porcentaje registrado es $<19\%$ en el cuarto anterior derecho (AD), observando una diferencia significativa del 9% entre los cuartos (AD y PD). Resultados que coinciden con el estudio realizado por Conlago (2013) en la comunidad de

Paquiestancia del cantón Cayambe se observa que el cuarto mamario más afectado fue el PD con un 55 % seguido del cuarto PI con un 53 %.

3.1.2 Porcentajes de cuartos mamarios afectados en haciendas



En la figura 2 se observa el porcentaje de cuartos mamarios afectados por mastitis en fincas ganaderas (La Alegría, San Mateo y El Chaupi) en el cual se obtuvo un porcentaje $> 33\%$ de afectación por mastitis para el cuarto (AD), seguido por los cuartos (AI) y (PD) con un 24% y 22% ; el porcentaje registrado es $< 21\%$ en el cuarto (PI), observando una diferencia significativa del 12% entre los cuartos (AD) y (PI). Estos resultados concuerdan con la investigación de Pérez (2006) en Nicaragua ya que el porcentaje de afectación

de los cuartos de 24.82 %, es similar a los cuartos mamarios (AI) y (PD) en la presente investigación.

3.1.3 Porcentajes de cuartos mamarios afectados en total de la población muestreada

Tabla 5.

Porcentajes de cuartos mamarios afectados por centros y haciendas muestreados

Nombres	D.D (%)	D.I (%)	P.D (%)	P.I (%)
Puliza	3	5	7	6
Sumak Guagra	4	3	6	1
Moyurco	1	6	4	5
Cariacu	4	4	2	3
Paquistancia	3	4	4	6
La Alegría	1	0	0	0
El Chaupi	4	0	1	2
San Mateo	16	13	14	12
Total	37	36	39	36
Porcentajes	25	24.32	26.35	24.32

Elaborado por: las Autoras, 2018.

Como se describe en la tabla N4, los porcentajes de cuartos mamarios afectados son: D.D 37 positivos (25 %), D.I 36 positivos (24.32 %), P.D 39 positivos (26.35 %) y P.I 24 positivos (24.32 %), estos datos se encuentran estandarizados ya que no existe una diferencia mayor al 1 % entre cada uno de ellos, lo cual indica que la enfermedad no difiere en ninguno de ellos. Según Conlago (2013) los datos obtenidos en esta investigación concuerda con los resultados del centro de acopio de la comunidad de Paquiestancia, teniendo un cuarto mamario con mayor afectación que es (PD), sin embargo en fincas lecheras del departamento de Antioquia (Colombia), según Cerón

(2007) el cuarto más afectado con mastitis clínica sigue siendo el (PD) pero con un porcentaje menor del 10.20. “Aunque cualquier número de cuartos puede resultar infectado simultáneamente en mastitis subclínicas, típicamente solo un cuarto mostrará mastitis clínica. Sin embargo, no es raro que los episodios clínicos causados por *Mycoplasma* afecten a múltiples cuartos” (Manual MERCK de Veterinaria, 2007, p. 1101).

3.2 Análisis de prevalencia en Centros de acopio y Haciendas



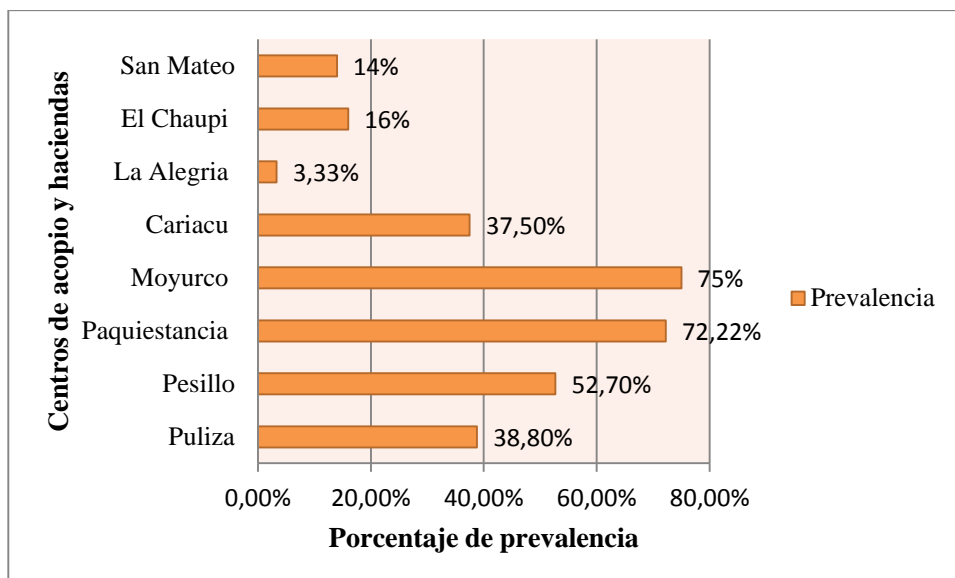


Figura 3. Porcentaje de prevalencia de mastitis bovina en centros de acopio y fincas ganaderas del cantón Cayambe y Pedro Moncayo

Elaborado por: las Autoras, 2018

3.2.1 Análisis de prevalencia en Centros de Acopio

En la figura 3 en lo que respecta a la prevalencia, se presenta con mayor porcentaje en centros de acopio de pequeños y medianos productores que en empresas ganaderas. La enfermedad se presenta en mayor proporción en la población de hatos lecheros del cantón en estudio como es el caso de Moyurco con 75 %, lo cual no concuerda con la investigación de Chasi (2014) realizada en la misma comunidad que tuvo 38.23 % de los animales sometidos dieron positivos en algún grado de infección, es decir que se incrementó los casos de enfermedad en el doble del porcentaje, es decir que en 3 años no disminuyó la prevalencia de la enfermedad, esto se pudo haber presentado por presencia de mayor número de animales/ha en la zona y un aumento en el promedio de producción de leche/vaca día .

Mientras que en Paquiestancia la prevalencia de la investigación es 72.22 % lo cual concuerda con los resultados que presentó Conlago (2013) de 64.03 %, en el caso de los centros de acopio de Pesillo con 52.7 %, Pulisa 38.8 % y Cariacu 37.5 % no existen estudios previos, pero los porcentajes son superiores al 25 %, por ende se debe tomar medidas de protección para los animales que están sanos, asépticas y profilácticas para los enfermos, ya que el grupo de animales expuestos son susceptibles y tienen probabilidades más altas de contagiarse que los animales que no lo están (Bonifaz N. , 2016).

3.2.2 Análisis de prevalencia en Haciendas

La prevalencia obtenida en la figura 3 esta detallada por finca con los siguientes datos: La Alegría, con una población total de 30 vacas en ordeño de las cuales solo 1 ejemplar es positivo para mastitis siendo así la prevalencia de 3.33 %; San Mateo, con una población de 200 vacas en ordeño de las cuales 28 ejemplares son positivos para mastitis siendo así la prevalencia de 14 %; y finalmente El Chaupi con una población de 50 vacas en ordeño de las cuales 8 ejemplares son positivos para mastitis siendo así la prevalencia aparente total de 16 % en las empresas ganaderas, obteniendo en un total en 13.21 % en las tres fincas ganaderas, lo cual concuerda con un estudio realizado en 20 haciendas en la provincia de Pichincha por Acuña (2008): 15 % San Juan Escalera 9 % y San Francisco 6 %. El nivel tecnológico, el manejo de alimentación, sanitario y el asesoramiento técnico que mantienen las haciendas evita que la prevalencia e incidencia de esta enfermedad sea menor que en unidades productivas de pequeños y medianos productores que entregan la leche en centros de acopio de las comunidades mencionadas.

3.2.3 Análisis de prevalencia total entre pequeños y grandes productores

La prevalencia obtenida en los cantones Cayambe y Pedro Moncayo de un total de 96 vacas positivas a mastitis clínica a una población de 389 en producción se obtuvo una prevalencia de 24.16 %, lo cual concuerda con el estudio de Gómez (2015) realizado en Lima con un 49 % obtenidas por medio de pruebas CMT, a su vez Fonseca (2014) en un estudio realizado en el cantón Cayambe, obtuvo 35.48 %, teniendo en cuenta que los datos se mantienen estandarizados en un rango de la presencia de la patología basados en el riesgo relativo el cual nos indica que cuando existe la presencia de un solo caso en una hato lechero, este se vuelve un riesgo de contagio para toda la población efectiva.

3.3 Porcentajes de presencia de agentes etiológicos

La siguiente tabla muestra todos los porcentajes obtenidos de 94 casos de vacas mastíticas, con 11 microorganismos encontrados al aplicar los algoritmos correspondientes de identificación.

Tabla 6.

Porcentajes de presencia de agentes etiológicos

Microrganismo	Centro de acopio	Haciendas	Total (%)
<i>Staphylococcus coagulasa positivo</i>	23.72	8.10	17.70
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	37.28	18.91	30.20
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1.69	0	1.04
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15.25	5.40	11.45
<i>Streptococcus agalactiae</i>	11.86	0	7.29
<i>Levadura spp</i>	22.03	43.24	30.20
<i>Moho spp</i>	6.77	21.62	12.50
<i>Vibrio fluvialis</i>	1.69	0	1.04
<i>Enterococcus spp</i>	3.59	5.40	4.16
<i>Streptococcus Disgalactiae</i>	0	5.40	2.08
<i>Xenorhabdus nematophilis</i>	0	2.70	10.04

Elaborado por Autores, 2018

Al realizar la investigación en una población total de 96 vacas en ordeño que son positivas para mastitis, se logró identificar agentes etiológicos, siendo *Staphylococcus coagulasa negativo* y *Levadura spp* con 30.2 % el mayor porcentaje, seguido por *Staphylococcus coagulasa positivo* (*Staphylococcus áureos*), y menor porcentaje a *Pseudomona aeruginosa*, *Vibrio fluvialis* y *Xenorhabdus nematophilis* con 1.04.

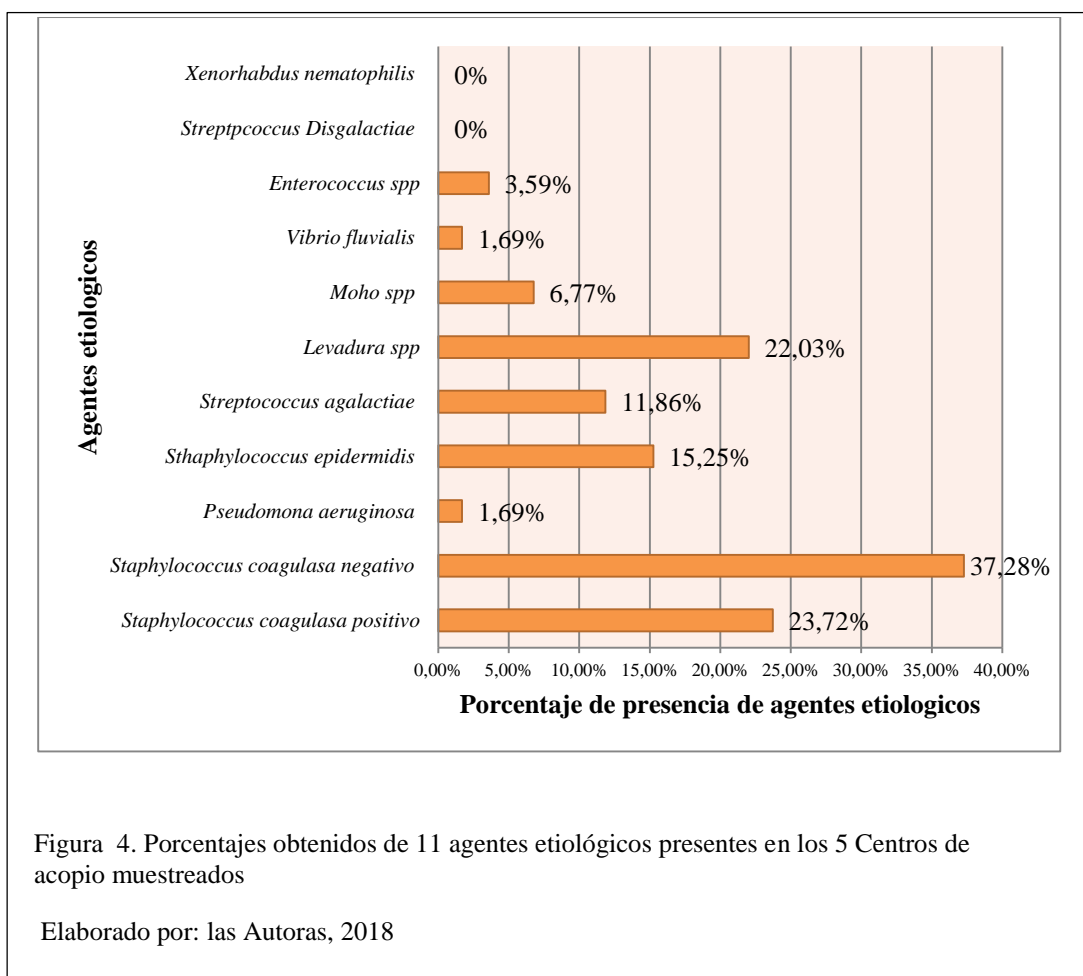
Ramirez, et al (2011) en la investigación realizada en Colombia alcanza un porcentaje de 23 %, de *Staphylococcus coagulasa negativo*, siendo este valor aproximando al de 30.2 % de presencia de este microorganismo que se obtuvo en este proyecto.

El resultado general obtenido en levaduras es 30.2% (*Cándida glabrata*) coincide con la investigación realizada en Brasil por Spanamberg, et al (2008) obteniendo un (37.9 %) *Cándida* (levaduras), pero según Zaragoza (2011) "Las especies encontradas con mayor frecuencia en los bovinos sanos y con mastitis clínica fueron *Cándida glabrata* y *Candida krusei*" (p.1), teniendo

gran concordancia con los resultados obtenidos, ya que Zaragoza en México obtiene 25.76 % en *Candida* , sin embargo Trujillo, et al (2011) exhibe la presencia de *Cándida*, siendo este valor 5.1 %.

Mientras que en resultados obtenidos de moho son de 12.5 %, en especial del género *Mucor* que según Paiz (2010) es un género que engloba a las especies causantes del moho que comúnmente se encuentra en aceite, plantas y vegetales echados a perder, aunque es considerado patógeno en el caso del ganado bovino crece en pastos para su alimentación ya que (Piñero, 2013) en la especie *Mucor circinelloides* hallada en pruebas moleculares de las muestras de la investigación se usa en su mayoría por su efecto parasiticida para trematodosis en vacas.

3.4.1 Análisis de presencia de agentes etiológicos en centros de acopio



En los centros de acopio pertenecientes a las comunidades, se logró identificar con un porcentaje mayor a *Sthaphylococcus coagulasa negativo* con un 37.27 %; seguido con porcentajes del 23.72 % *Sthaphylococcus coagulasa positiva* (*Sthaphylococcus aureus*), 22.03 % *Levadura spp*, 15.25 % *Sthaphylococcus epidermidis* y 11.86 % *Streptococcus agalactiae*, y en menor proporción a *Pseudomona auroginosa* y *Vibrio fluvialis* con 1.69 %; que concuerda con lo encontrado por Kent, *et al.* (2014) en Cuba en sus resultados de la investigación (Prevalencia, recuento de células somáticas y etiología de la mastitis bovina en rebaños cubanos) donde enfatiza la

presencia de a *Staphylococcus coagulasa negativo* con un 33.0 % de presencia.

Coincide también con Oliveira (2011), en Rio de Janeiro con un porcentaje del 32.3 % de presencia de *Staphylococcus coagulasa negativo*, que sigue siendo significativo para la investigación.

3.4.2 Análisis de presencia de agentes etiológicos en Haciendas

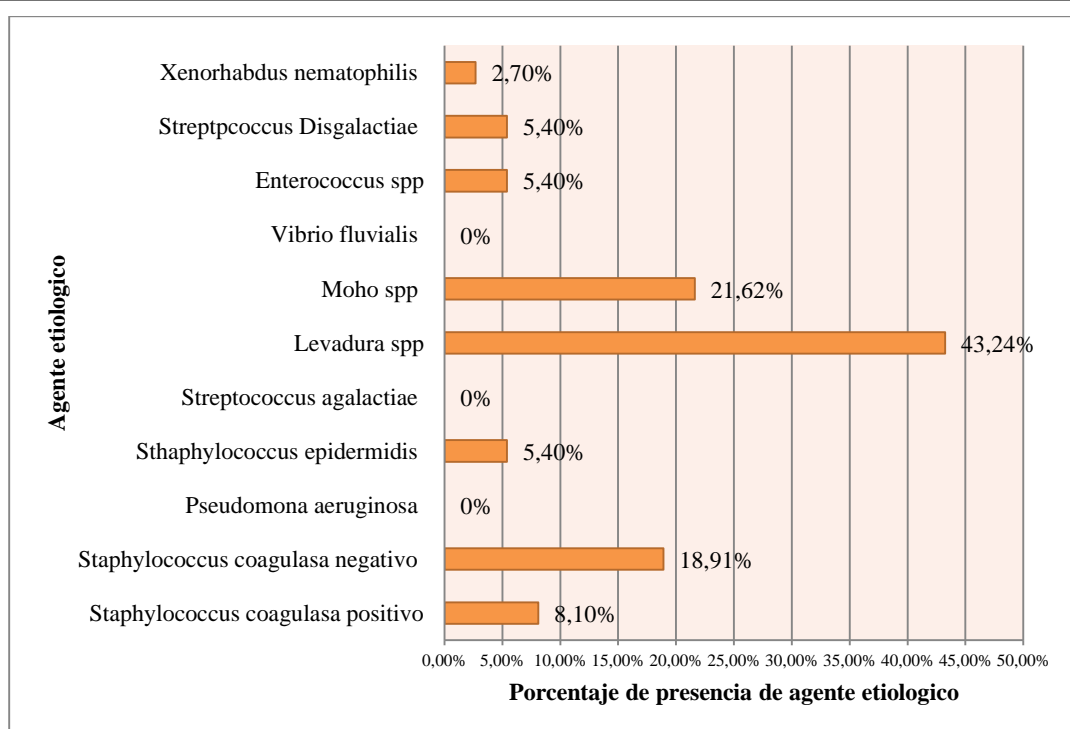


Figura 5. Porcentaje obtenido de los 11 agentes etiológicos presentes en haciendas

Elaborado por: las Autoras, 2018

A diferencia de los centros de acopio, en la figura 5 en fincas se encontró un porcentaje mayor a *Levadura spp* con 43.24 % ,en específico a la especie *Candida glabrata* que coincide con la investigación realizada en la Alta meseta en Mexico por Segundo (2011) obteniendo un valor aun mayor de 58.75 % , a pesar de tener una gran presencia en la patología, Castro, *et al*

(2004) que aisló tan solo 1.53% seguido de *Moho* spp con 21.62 % en el cual el más representativo es la especie *Mucor* siendo un patógeno causante de la enfermedad en esta investigación, posee baja concordancia con otras investigaciones como en la de Mdegela (2005) que obtuvo un 1.2 % al igual que Mdegela, *et al.* (2004) en sectores de pequeños productores de leche, que determino un 2.5 % de presencia, lo cual indica que en este sector productivo lechero existe infección de microorganismos oportunistas a gran escala y no a nivel bacteriológico, presentándose en menor porcentajes; *Staphylococcus coagulasa negativo* con 18.91 % y *Staphylococcus coagulasa positiva* con 8.1 %,

3.5 Porcentajes de resistencia antibióticos

Se analizaron 13 diferentes antibióticos por las 96 muestras positivas de leche cruda de la cual se obtuvo los siguientes porcentajes.

Tabla 7.

Porcentajes de resistencia de antibióticos

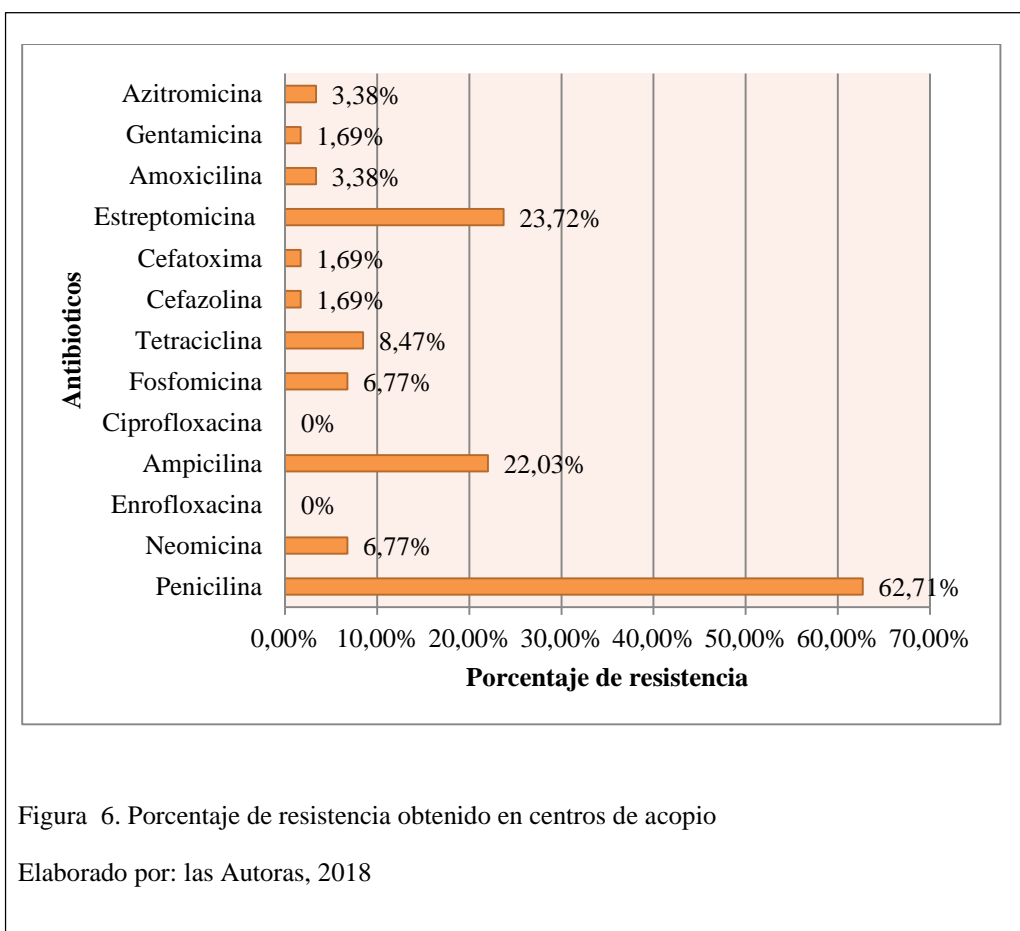
Antibiótico	Centro de acopio (%)	Hacienda (%)	Total (%)
Penicilina	62.71	21.62	46.88
Neomicina	6.77	2.70	5.21
Enrofloxacin	0	2.70	1.04
Ampicilina	22.03	13.51	18.75
Ciprofloxacina	0	2.70	1.04
Fosfomicina	6.77	18.91	12.50
Tetraciclina	8.47	18.91	12.50
Cefazolina	1.69	2.70	2.08
Cefatoxima	1.69	10.81	5.21
Estreptomicina	23.72	8.10	17.71
Gentamicina	1.69	0	1.04
Azitromicina	3.38	0	2.08
Amoxicilina	3.38	2.70	3.13

Elaborado por: las Autoras, 2018.

En la tabla 7 correspondiente a porcentajes totales obtenidos en las pruebas de resistencia a antibióticos, se muestra que con el mayor porcentaje se ubica el antibiótico Penicilina con 46.88 % tomando en cuenta que las cifras siguientes son la mitad del porcentaje ya mencionado como Ampicilina con 18.75 % y Estreptomicina con 17.71 %; finalmente los antibióticos con menos de 5 % de resistencia están: Cefazolina, Azitromicina, Amoxicilina, Gentamicina, Ciprofloxacina y Enrofloxacin. Según San Martín (2002) Se observaron valores elevados de resistencia ($> 25\%$), frente a amoxicilina, ampicilina, penicilina, estreptomicina mientras que en los casos de enrofloxacin y gentamicina se encontró en porcentajes de 20 % y 12 %.

A su vez en estudio realizado en Venezuela por Valero (2010) el mayor porcentaje de resistencia se presentó frente a penicilina con un 12.4 %, seguido por 4.9 % a ciprofloxacina y estreptomicina, 3.7 % a eritromicina, 2.5 %; lo cual concuerda con nuestra investigación en general entre el rango de los porcentajes ya que el uso de estos antibióticos son de nivel general y ninguno de los porcentajes excede el 30 % de resistencia.

3.5.1 Resistencia de antibióticos en Centros de Acopio



Los resultados obtenidos en centros de acopio nos indica que con el mayor porcentaje a 50 % se encuentra la Penicilina con 62.71 %, como se muestra en la figura 7, tanto la Estreptomina como Ampicilina poseen un porcentaje medio de 22 y 23 % de resistencia, además se observa que existen antibióticos con 0 % de resistencia como es: Enrofloxacina y Ciprofloxacina. En comparación con la investigación realizada en el mismo año de Argudo (2017) en 19 hatos ganaderos de la provincia de Azuay también se encontró con porcentaje mayor al 50 % a penicilina con 76.23 %; estreptomina con 90.98 % y amoxicilina con 87 %, mientras que en otro estudio se presentó

que la penicilina G y amoxicilina y presentaron altos porcentajes de sensibilidad 76.23 %, 87.70 % (Bani & Alekish, 2015). Lo cual indica que el alto consumo de penicilina sin prescripción médica y de fácil acceso a nivel económico en las diferentes comunidades de dichos estudios ha hecho que este antibiótico ya no sea posible utilizarlo para el tratamiento de mastitis ya que no produce ningún efecto sobre la patología. No se encontró resistencia de los animales a enrofloxacin y ciprofloxacina.

3.5.2 Porcentaje de resistencia antibióticos en Haciendas

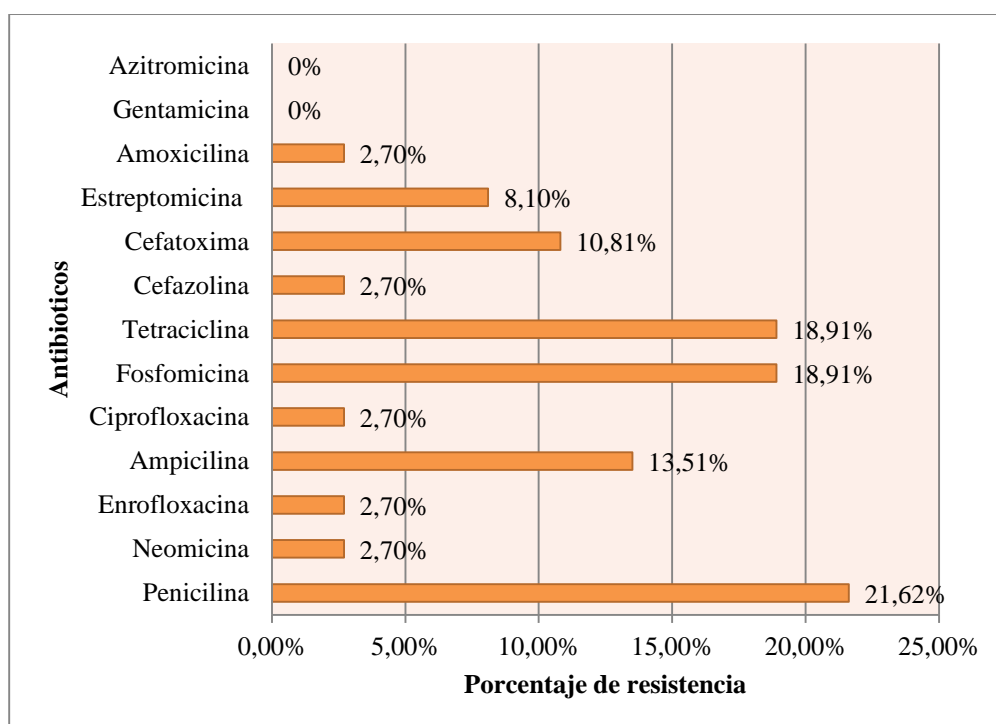


Figura 7. Porcentaje de resistencia antibióticos en Haciendas

Elaborado por: las Autoras, 2018

En las fincas ganaderas se evidencio que el mayor porcentaje a resistencia sigue siendo Penicilina como en el caso de centros de acopio, pero en menor porcentaje del 21.62 % correspondiente a la figura 8, seguidos por Tetraciclina y Fosfomicina con 18.91 %; y con un porcentaje de 0 % de resistencia a Azitromicina y Gentamicina, en lo que respecta a un estudio de Perú a 4 haciendas ganaderas realizado por Villanueva y Morales (2017) concuerda que “Las pruebas de antibiograma a las cepas bacterianas más importantes dieron como positivo a la resistencia: penicilina 65.625 %; gentamicina 56.25 %, estreptomicina 53.125 %, eritromicina 18 %” (p.5). A su vez Bonilla y Murillo (2015) en Colombia, Tolima; también encontró “que el 58 % presentó resistencia a la tetraciclina y el 61 %, a la penicilina G”, recalcando que todos los estudios incluyendo esta investigación se utilizó la prueba de disco de difusión.

En el caso de la Gentamicina y Eritromicina en los estudios de diferentes países se encuentra un porcentaje mayor al 50 % mientras que en nuestra investigación no presenta resistencia.

Conclusiones

La prevalencia aparente total obtenida en la investigación fue de 24.16 %. En centros de acopio enfriamiento y comercialización la prevalencia fue de 75% Moyurco, 72.2 % Paquiestancia, 52 % Pesillo, 38 % Puliza y 37 Cariacu; mientras que en las empresas ganaderas fue de un 16 % El Chaupi, 14 % San Mateo y 3.3 % La Alegría.

Los agentes etiológicos encontrados en la investigación muestran un patrón estandarizado, ya que al analizar los resultados ninguno de los 11 microorganismos excede el 40 % del total de 96 muestras examinadas, como en el caso de *S. coagulasa negativo* con 30.2 %, *Levaduras* spp 30.2 % y de menor como *Enterococcus* con 4 % y *Pseudomonas* con 1 % que son microorganismos oportunistas.

Los microorganismos oportunistas como mohos y levaduras afectan en mayor proporción a las fincas ganaderas, con una presencia de 23 y 43 %, este resultado se correlaciona con un alto porcentaje de resistencia a los antibióticos betalactámicos ya que la presencia de estos patógenos en hatos ganaderos se presenta especialmente después del uso prolongado de Penicilinas u otros antibacterianos. Mientras que en los centros de acopio la enfermedad sigue presentándose en mayor porcentaje a nivel bacteriológico.

El resultado del análisis de antibiograma arrojó que la mayoría de los animales muestreados presentan resistencia a varias familias de antibióticos como son; los Betalactámicos 88 % (Penicilina G 46.88 %, Ampicilina 18.8 %, Amoxicilina 3.13 %, Cefalosporinas 7.29 %, Fosfomicina 12.5 %), Aminoglucósidos 23.24 % (Estreptomicina 17.7 %, Gentamicina 1 %,)

Neomicina 5.2 %), Tetraciclinas 12.5 % (Oxiteraciclina), Macrólidos 2 % (Azitromicina), Fluoroquinolonas 2.08 % (Enrofloxacin 1.04 % y Ciprofloxacina 1.04 %).

El daño en los 148 cuartos mamarios analizados de un total de 96 muestras a mastitis positivas es homogéneo, siendo esta una característica normal, los valores oscilan entre el 24 y el 25 % lo cual nos indica que la afectación patológica se da en los cuartos con mayor y menor producción.

Recomendaciones

Continuar con la investigación en base a la identificación molecular por microorganismo, para obtener con exactitud su género y especie, con el fin de que el tratamiento por animal sea el más adecuado evitando causar así más resistencia antibiótica y pérdida a nivel económico en el sector ganadero.

Aplicar buenas prácticas sanitarias en el manejo del ordeño, mediante capacitaciones anuales como apoyo tanto a las comunidades y fincas ganaderas para disminuir la incidencia de mastitis en los animales.

Concientizar a los pequeños productores de las diversas comunidades acerca del abuso de antibióticos sin prescripción médica de un veterinario, siendo este problema el principal causante de resistencia antibiótica provocando la pérdida de animal por descarte.

Sugerir a las fincas ganaderas que se designe tiempo y espacio adecuado para el ordeño, ya que la aglomeración del ganado en el mismo lugar provoca el aumento de contaminación ambiental y en el equipo a utilizar.

Referencias

- Acebo, M. (2007). *Mastitis MSD Health en Ecuador* . Obtenido de MSD: www.msd-salud-animal.ec/Binaries/Mastitis_Mauro_Acebo_tcm46-28372.doc
- Acuña, V. (2008). *Aislamiento, identificación y antibiogramas de patógenos presentes en la leche con mastitis*. Obtenido de ESPE: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2553/1/T-ESPE-IASA%20I-003435.pdf>
- AGROCALIDAD. (2013). *RESOLUCIÓN No. 111*. Quito: Guía de Buenas Prácticas Pecuarias; Capítulos VI De la Sanidad Animal y Del programa del control de plagas.
- Aguila, A. (1 de Agosto de 2016). *Antibiograma*. Obtenido de Telmeds: <http://www.telmeds.org/wp-content/uploads/2016/11/Antibiograma.pdf>
- Argudo, D. (2017). *FACTORES QUE AFECTAN LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AISLADO DE MASTITIS BOVINA*. Obtenido de UCuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28471/1/trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n.pdf>
- Armenteros, M. (2002). Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaño de lechería especializada en Cuba . *Revista de salud animal*, 99. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_serial&pid=0253-570X&lng=es&nrm=iso M
- Avila T., S., & Gutiérrez C., A. (2004). Mastitis . Universidad Nacional Autónoma consultado el 30 de Junio : <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Mastitis%20>.
- Bani, & Aleksh. (2015). *Hematology and serum biochemistry analyses* . Obtenido de ABAH: <http://www.abah.bioflux.com.ro/docs/2015.202-207.pdf>
- Bedolla, C. y. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en. *Revista electrónica de Veterinaria*, 5.
- Bedolla, C., Castañeda, V., & Wolter, W. (1 de Septiembre de 2007). *Metodos de detección de la mastitis bovina* . Obtenido de Revista electronica de veterinaria : <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>
- Bonifaz, N. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis test con identificación del agente etiológico en Paquistancia Cayambe, Ecuador. *La Granja: Revista de Ciencias de la vida*, 24(2): 43-52.
- Bonilla, M., & Murillo, N. (27 de Abril de 2015). *Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana del estafilococo coagulasa negativo aislado de mastitis*. Obtenido de Scielo: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n30/n30a07.pdf>

- Bowen, C. (2014). *Guia de laboratorio microbiologico*. Obtenido de PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR pag 38: <ftp://ftp.puce.edu.ec/Facultades/Medicina/CEAACES/PLAN%20CURRICULAR/C3.2%20PRACTICAS%20Y%20CORRESPONDENCIA%20CURRICULAR/GU%C3%8DAS%20DE%20PRACTICA%20DE%20LAB/GUIA%20DE%20LABORATORIO%20DE%20MICROBIOLOG%C3%8DA.pdf>
- Bradley, A. (2002). *Mastitis bovina: una enfermedad en evolución*. Departamento de Ciencias Veterinarias Clínicas, Inglaterra: Revista Veterinaria PUBMED.
- Bravo. (2009). *ESTUDIO DE INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE MASTITIS Y SU IMPACTO ECONÓMICO EN LECHERÍAS DE LA X REGIÓN*. Obtenido de Universidad de Chile : <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112245/Memoria%20de%20t%C3%ADtulo%20Krislli%20Bravo%20U.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Calvhino. (6 de Marzo de 2010). *Tratamiento de mastitis clinica y manejo de antibioticos*. Obtenido de APROCAL: http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/manejo_antibioticos.htm.pdf
- Carrillo, A. (2017). *Manejo técnico de mastitis y calidad de leche*. Obtenido de Actualidad Ganadera : <http://www.actualidadganadera.com/articulos/manejo-tecnico-de-mastitis-y-calidad-de-leche.html>
- Castillo, R. (2014). *La mastitis bovina* . Obtenido de UMCC: <http://monografias.umcc.cu/monos/2014/Facultad%20Agronomia/mo141.pdf>
- Castro, G. (2004). *Aislamiento e identificación de levaduras de leche de vacas clínicamente sanas o con mastitis clínica crónica*. Obtenido de file:///C:/Users/Usuario/Downloads/VICongresoNacionaldeControldeMastitisCalidaddelecheYProduccionLcteyICongresoIberoamericanodeProduccionAnimal%20(1).pdf
- Cerón, M. (2007). *Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba CMT en dos fincas lecheras del departamento de Antioquia (Colombia)*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v20n4/v20n4a06.pdf>
- Chasi, E. (2014). *Estudio de prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis test en el centro de acopio de leche de la comunidad de Moyurco*. Obtenido de UPS: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9839/1/YT00309.pdf>
- Chaves, J. (4 de Marzo de 2015). *Mastitis bovina: Su control y prevencion es una tarea permanente*. Obtenido de Aprocal: http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/mastitis_bovina.htm.pdf

- Conlago, F. (2013). *Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en la comunidad Paquiestancia, Cayambe-Ecuador 2012*. Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana, Cayambe.
- De la Cruz, D. I. (2012). *correlación de los métodos de California mastitis test* . Obtenido de Laboratorio de la Calidad de la Leche: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3730/6/UPS-YT00136.pdf>
- Domvet. (2007). *Antibioticos y sulfonamidas*. Obtenido de Domvet: <http://www.domvet.com/pharmvet/2007spanish-catalogue.pdf>
- Echeverri, J. (2010). *Evaluación comparativa de dos metodologías de diagnóstico de mastitis* . Obtenido de Revista Lasallista de Investigación: <http://www.redalyc.org/pdf/695/69514965007.pdf>
- Farinango. (15 de Mayo de 2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificacion del agente etiológico*. Obtenido de UPS: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9826/1/YT00250.pdf>
- Felipe, V. (2010). *Mastitis, confort animal y calidad de leche*. Poporatto: Edivim.
- Fernández. (20 de Abril de 2004). *Medidas de frecuencia de enfermedad*. Obtenido de Festerra : https://www.fisterra.com/mbe/investiga/medidas_frecuencia/med_frec2.pdf
- Fernández, O. (2012). *MAstitis bovina: Generalidades y metodos de diagnostico* . Obtenido de Sitio argentino de produccion animal : http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf
- Fonseca, L. (2014). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificacion de agente etiológico en la comunidad El Chaupi del canton Cayambe* . Obtenido de UPS: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9825/1/YT00303.pdf>
- Gálvez, J. (1998). *Estimación de Prevalencia y perdida de producción de leche provocada por Mastitis Subclínica en partos de Otoño y Primavera en el Fundo Punahue*. Obtenido de UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE : pag 15 <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/1998/fvg182e/doc/fvg182e.pdf>
- Garza, L., & Hidalgo, J. (Mayo de 2015). *Tesis* . Obtenido de Determinación de residuos antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en carne e hígado de bovinos faenados en el rastro municipal de Santa Ana, El Salvador.: <http://ri.ues.edu.sv/8394/1/13101592.pdf>
- Gómez, O. (Lima de 2015). *Interpretation criteria for California Mastitis test in the diagnosis of subclinical Mastitis in cattle*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172015000100011&script=sci_arttext

- INEN, N. (2012). *LECHE CRUDA. REQUISITOS*. Obtenido de INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN: <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/9-5.pdf>
- IRAMAIN, M. S. (2005). *Pseudomonas aeruginosa en agua y leche cruda*:. Obtenido de Área de Bases Agrícolas, Departamento de Producción Animal: pag 134-135 <http://www.scielo.org.ar/pdf/invet/v7n1/v7n1a15.pdf>
- ISO. (2013). *Criterios de especificacion de antibioticos* . Obtenido de Organization for standardization: <https://www.iso.org/home.html>
- Jimenez, A. (2015). *Streptococcus uberis. Un nuevo reto*. Obtenido de pag 19: http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/18/cys_18_Streptococcus_uberis.pdf
- Kent, A. (2014). *Prevalencia, conteo de células somáticas y etiología de la mastitis bovina en rebaños cubanos de la provincia Mayabeque con ordeño manual y mecánico*. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000100002&lang=es
- Kruze. (1998). La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. Obtenido de Scielo: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1998000200001&lng=en&nrm=iso&tlng=en#PHILPOT_1991
- Manual de Merck de Veterinaria. (2007). Barcelona: Océano.
- Martinez, J. (2013). *Patógenos oportunistas*. Obtenido de Departamento de Biotecnología Microbiana. Obtenido de Semicrobiología: https://www.semicrobiologia.org/pdf/actualidad/55/20_BMP_55_Martinez.pdf
- Martin, M. (2001). *Mastitis por hongos y Levaduras* . Obtenido de Frisona Española: <http://www.revistafrisona.com/Portals/0/articulos/n207/temario%20hongos.pdf>
- Martin, M. (2015). *Streptococcus uberis, más allá de un germen ambiental* . *Frisona Española*, 71.
- San Martin, (2002). *Bacterial resistance of mastitis pathogens isolated from dairy cows in the Vth Region, Metropolitan Region and Xth Region, Chile*. Obtenido de Scielo: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000200008&script=sci_arttext
- Martinez, G., & Flores, B. (5 de Marzo de 2012). *Practicas de ordeño y prevalencia de mastitis subclinica en vacas lecheras que abastecen al centro de acopio de ULDESA* . Obtenido de UNANLEON: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/5678/1/221947.pdf>

- Mdegela, R. (2004). Prevalencia y factores determinantes de la mastitis y las zoonosis transmitidas por la leche en el sector de pequeños productores lecheros en los distritos de Kibaha y Morogoro en el este de Tanzania. *Revista de medicina veerinaria* , 2.
- Mdegela, R. (2005). *Mastitis en pequeños rebaños de vacas lecheras y pastorales en las áreas urbanas y periurbanas del municipio de Dodoma en el centro de*
- Moreno, R. C. (3 de Abril de 2014). *Lectura interpretada del antibiograma*. Obtenido de AEFA: http://www.aefa.es/wp-content/uploads/2014/04/Lectura-interpretada-del-antibiograma_ejercicio-intelectual-o-necesidad-clinica.pdf
- Olguín, A. (2008). *AMMVEB*. Obtenido de Enfermedades de la glandula mamaria : http://www.ammveb.net/clinica/enfermedades_de_la_glandula_mamaria.pdf
- Olmos, A. (2010). *Metodos de identificación bacteriana el laboratorio de microbiologia*. Obtenido de pag 12: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Oliveira, C. (2011). *Prevalencia y etiología de la mastitis bovina en la cuenca lechera de Rondon do Pará, estado de Pará*. Obtenido de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2011000200002&lang=es
- Orellana, A. (28 de Octubre de 2010). *Control de calidad del reactivo californiano de produccion nacional* . Obtenido de UAGRM: http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis/ORELLANA%20ALEX-20101028-180344.pdf
- Paiz, J. (2010). *Búsqueda de mutantes de Mucor circinelloides*.
- Pereyra, D. y. (2014). *Aspectos de la respuesta inmune innata en las infecciones intramamarias causadas por Staphylococcus aureus en bovinos*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754114700963>
- Pérez, D. (2006). *Estudio epideiologico de la prevalencia de mastitis subclinica en el ganado reina en la finca Santa Rosa*. Obtenido de Nicaragua : <http://repositorio.una.edu.ni/1308/1/tnl73p438.pdf>
- Piñero. (2013). *UTILIZACION DE HONGOS PARASITICIDAS PARA EL CONTROL DE TREMATODOSIS*. Obtenido de AIDA: http://www.aida-itea.org/aida-itea/files/jornadas/2013/comunicaciones/2013_PA_09.pdf
- Qualitat. (5 de Junio de 2015). *Bacteriologia clinica* . Obtenido de Qualitat : http://www.qualitat.cc/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/Taxonomia_basica.pdf
- Ramirez et al, N. (2011). *Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia*. Obtenido de file:///C:/Users/Usuario/Downloads/562-Texto%20del%20art%C3%ADculo-1135-1-10-20120910.pdf

- Ruegg, L. (2010). *milkquality*. Obtenido de Tratamiento de las Mastitis Clínicas: <http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/El-tratamiento-de-las-Mastitis-Cl%C3%ADnicas-ANEMBE-2011.pdf>
- Ruegg, P. (2010). *Tratamiento de las Mastitis Clínicas: Factores que Influyen en el ordeño*. Obtenido de <http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/El-tratamiento-de-las-Mastitis-Cl%C3%ADnicas-ANEMBE-2011.pdf>
- Ruiz, A. (6 de Julio de 2016). *Importancia de realizar el California Mastitis Test (CMT) ara el diagnóstico de mastitis y su interpretación*. Obtenido de Genbiogan: <https://www.genbiogan.com/single-post/2016/07/06/Importancia-de-realizar-el-California-Mastitis-Test-CMT-para-el-diagn%C3%B3stico-de-mastitis-y-su-interpretaci%C3%B3n>
- Ruiz, R. (2008). *MASTITIS BACTERIANA EN GANADO BOVINO: ETIOLOGÍA Y TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO*. Obtenido de AMMVEB: http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf
- Ruiz, R. (4 de Mayo de 2012). *Mastitis bacteriana en ganado bovino, etiologia y tecnicas de diagnostico en el laboratorio*. Obtenido de Ammveb: http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf
- Segundo, C. (2011). Aislamiento de las levaduras de las glándulas mamarias bovinas en diferentes estados de mastitis. *Revista Iberoamericana Micología*, 2.
- Spanamberg, A. (2008). *Diversidad de levaduras de mastitis bovina en el sur de Brasil*. Obtenido de pag 1: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18785784>
- Talavera. (1 de Noviembre de 2012). *Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnostico*. Obtenido de REDVET: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111112/111202.pdf>
- USAL. (2014). *Antibiograma*. Obtenido de USAL: [http://campus.usal.es/~micromed/Practicas_odontologia/unidades/labv/Lab Micro/Antibiograma.html](http://campus.usal.es/~micromed/Practicas_odontologia/unidades/labv/Lab%20Micro/Antibiograma.html)
- Valero. (Julio de 2010). *SUSCEPTIBILIDAD A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS EN CEPAS DE Staphylococcus aureus AISLADAS EN LECHE DE BOVINOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA Y LECHE DE TANQUE*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-22592010000400006&script=sci_arttext&tlng=en
- Velasquez. (19 de Septiembre de 2012). *Mastitis bovina un problema en el campo*. Obtenido de Mazovelasquez: <http://mazovelasquezenelcampo.blogspot.com/2012/09/diagnostico-de-la-mastitis.html>
- Veracruzana. (12 de Mayo de 2014). *Prueba de la coagulasa*. Obtenido de Scrib : <https://es.slideshare.net/ferchohuertadector/prueba-de-la-coagulasa-34601011>

- Villanueva, G., & Siever, M. (Diciembre de 2017). *Resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica en animales de crianza*. Obtenido de REDVET: <file:///C:/Users/usuario%201/Downloads/Resistenciaantibiticadepatgenosbacterianosaisladosdemastitisbovina.pdf>
- Zaragoza, S. (2011). *Aislamiento de levaduras de glándulas mamarias con diferentes presentaciones de mastitis en el Altiplano Mexicano*. Obtenido de <http://pesquisa.bvsalud.org/bvsvs/resource/pt/ibc-129019>

Anexos

Anexo 1 Fase de la metodología; Fase de campo: toma de muestras de leche



Ordeño para toma de leche de pequeños productores



Muestras por bidón



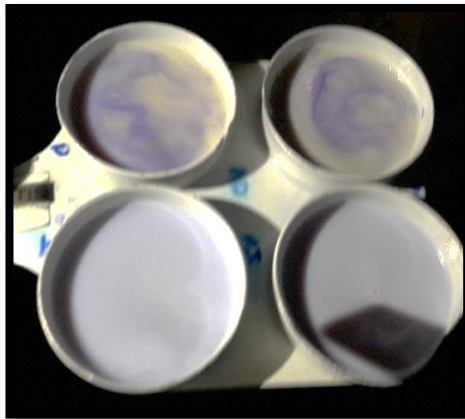
Muestreo por animal

Elaborado por: las Autoras, 2018

Anexo 2 Fase 1 de la metodología Pruebas de California test (CMT)



Toma de muestra de leche para CMT



Mastitis subclínica en los posillos de la paleta



Mastitis clínica en el posillo A.D de la peleta

Elaborado por: las Autoras, 2018

Anexo 3 Fase 2 fase laboratorio: Análisis de conteo de células somáticas en el equipo Fossomatic



Elaborado por: las Autoras, 2018



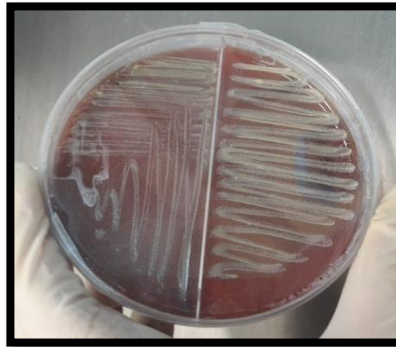
Analisis de muestra de Leche en el equipo

Elaborado por: las Autoras, 2018.

Anexo 4 Fase 2 de laboratorio: Trabajo en el área de microbiología en siembra de muestras de leche en diferentes estilos



Siembra de leche cruda en cámara de flujo



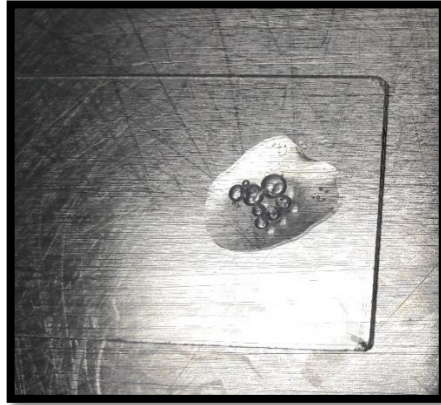
Crecimiento de microorganismos en estriado simple



Crecimiento de microorganismos en estriado compuesto

Elaborado por: las Autoras, 2018

Anexo 5 Fase 2 de laboratorio: Pruebas de identificación microbiología, pruebas químicas.



Prueba química, positiva para catalasa



Prueba de API



Prueba química, negativa para coagulasa

Elaborado por: las Autoras, 2018

Anexo 6 Fase 2 de laboratorio: Tipos de hemolisis presentes en agar sangre.



Hemolisis alfa



Hemolisis beta



Hemolisis gama

Elaborado por: las Autoras, 2018

Anexo 7 Fase 2 de laboratorio: Pruebas de Fermentación en agar manitol sal.



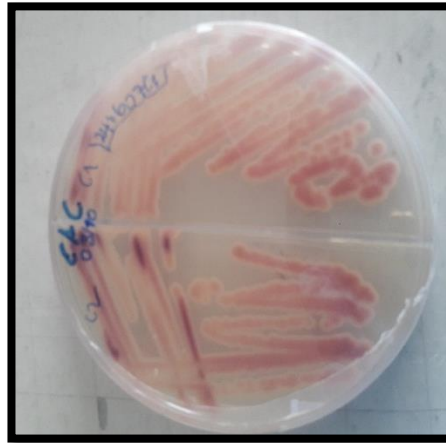
Amarrillo positivo para *Staphylococcus*



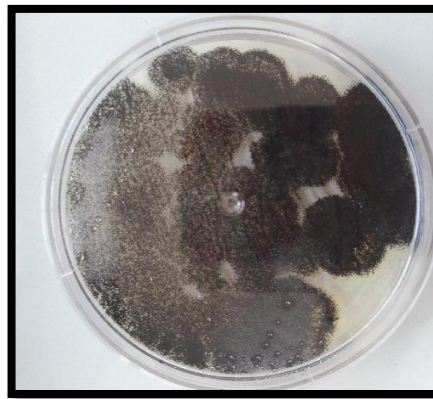
Fuscia positivo para *Staphylococcus epidermitis*

Elaborado por: las Autoras, 2018

Anexo 8 Fase 2 de laboratorio : Resultados obtenidos en diferentes medios de cultivo



Levadura *Candida glabrata* en medio de cultivo específico.



Moho *Mucor* en medio PDA



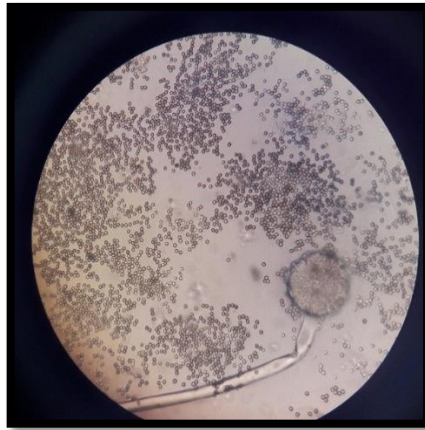
Resistencia antibiótica en medio de Muller (*S.aureus*)

Elaborado por: las Autoras, 2018

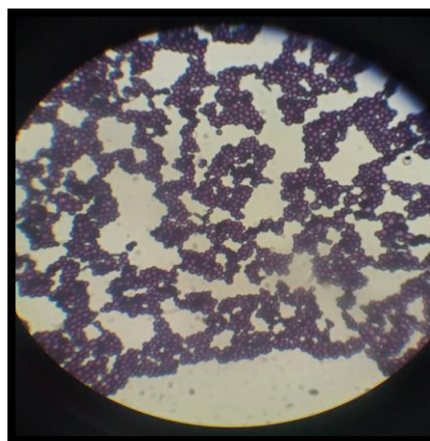
Anexo 9 Fase 2 de laboratorio : Resultados obtenidos mediante la observación en el microscopio con una resolución en el lente 100x.



Bacilos Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*



Mohos tecnica de cinta adhesiva *Aspergillus Niger*



Cocos Gram (+) *S. aureus*

Anexo 10 Protocolo LCL 001 del Laboratorio de calidad de la leche en Cayambe

- Lavar, enjuagar y secar la ubre.
- Con una solución de alcohol al 70% desinfectarse las manos.
- Con la misma solución y utilizando algodón desinfectar los pezones.
- Dejar secar por dos minutos.
- Eliminar los primeros dos chorros de leche antes de tomar la muestra.
- Extraer de cada cuarto dos ml de leche aproximadamente, depositándola en cada una de las copas de la paleta.
- Anadir igual volumen de CMT a cada una de las copas.
- Mezclar durante 20 segundos mediante una ligera rotación circular de la paleta manteniendo una posición horizontal.